

**Untersuchungen zum Einfluss von Extrakten aus Textilien auf
Escherichia coli und *Staphylococcus aureus* mit Hilfe eines
Mikroplattennephelometers**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae dentariae
(Dr. med. dent.)

vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät der
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Matthias Reiß
geboren am 08.01.1979 in Zwickau

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. Peter Elsner,
Klinik für Dermatologie und dermatologische Allergologie, an der FSU- Jena
2. PD Dr. med. Udo Markert,
Klinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, FSU- Jena
3. Prof. Dr. Uwe Wollina,
Chefarzt der Klinik für Dermatologie und Allergologie, Dresden- Friedrichstadt

Tag der öffentlichen Verteidigung: 06.10.2008

Abkürzungsverzeichnis

AD	Atopische Dermatitis
Ag ⁺ -ionen	Silberionen
dest.	destilliertes
DNA	Desoxyribonukleinsäure
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>EHEC</i>	<i>Enterohämorrhagische E. coli</i>
<i>EIEC</i>	<i>Enteroinvasive E. coli</i>
<i>EPEC</i>	<i>Enteropathogene E. coli</i>
<i>ETEC</i>	<i>Enterotoxinbildende E. coli</i>
h	Stunde/ Stunden
Konz.	Konzentration
mg	Milligramm
mL	Milliliter
ppb	parts per billion
RNA	Ribonukleinsäure
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
SPSS	Statistical Product and Service Solutions

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	I
Inhaltsverzeichnis.....	II
1 Zusammenfassung.....	1
2 Einleitung.....	3
2.2 Epidemiologie und Faktoren der atopischen Dermatitis.....	3
2.3 SeaCell® Active.....	5
2.4 Nephelometrie.....	7
2.5 <i>Escherichia coli</i> -Bakterien.....	9
2.5.1 <i>Enteropathogene Escherichia coli (EPEC)</i>	9
2.5.2 <i>Enterohämorrhagische Escherichia coli (EHEC)</i>	10
2.5.3 <i>Enterotoxinbildende Escherichia coli (ETEC)</i>	10
2.5.4 <i>Enteroinvasive Escherichia coli (EIEC)</i>	10
2.6 <i>Staphylococcus aureus</i> -Bakterien.....	11
2.7 Die Bedeutung von Silber in der Medizin.....	12
3 Ziele der Arbeit.....	14
4 Material und Methodik.....	15
4.1 Chemikalien.....	15
4.2 Geräte und Materialien.....	15
4.3 Software.....	16
4.4 Untersuchungsmaterial.....	17
4.5 Extrakterstellung.....	17
4.5.1 Herstellung des textilen Untersuchungsmaterials.....	17
4.5.2 Herstellung der Extrakte.....	18
4.5.3 Filtration der Extrakte.....	18
4.6 Verwendete Bakterienstämme und Bakterienanzucht.....	19
4.6.1 Glucose-Bouillion.....	19
4.7 Vorversuche.....	19
4.7.1 Keimzahlbestimmung.....	20
4.7.2 Standardkurven.....	20
4.7.3 Wachstumskurven ohne Extrakte.....	21
4.8 Erstellen der Wachstumskurven mit Extrakten am Nephelometer.....	22
4.8.1 Herstellung der Bakteriensuspension und Einstellen der Ausgangskeimzahl	22
4.8.2 Herstellung unterschiedlicher Konzentrationen.....	23

4.8.3	Layout der Mikrotiterplatten	24
4.8.4	Messung im Nephelometer.....	25
4.8.5	Überimpfen der Bakteriensuspension auf Agarplatten	25
4.9	Mathematische Auswertung der Messwerte	26
5	Ergebnisse	27
5.1	Wachstum von <i>Escherichia coli</i> unter dem Einfluss der Textilextrakte.....	27
5.1.1	Wachstum von <i>Escherichia coli</i> unter dem Einfluss der Extrakte F1.....	27
5.1.2	Wachstum von <i>Escherichia coli</i> unter dem Einfluss der Extrakte F2.....	29
5.1.3	Wachstum von <i>Escherichia coli</i> unter dem Einfluss der Extrakte F3.....	31
5.1.4	Wachstum von <i>Escherichia coli</i> unter dem Einfluss der Extrakte G5	33
5.1.5	Wachstum von <i>Escherichia coli</i> unter dem Einfluss der Extrakte V1	35
5.1.6	Wachstum von <i>Escherichia coli</i> unter dem Einfluss der Extrakte V2.....	37
5.1.7	Wachstum von <i>Escherichia coli</i> unter dem Einfluss der Extrakte V3	39
5.1.8	Wachstum von <i>Escherichia coli</i> unter dem Einfluss der Extrakte W2	41
5.2	Wachstum von <i>Staphylococcus aureus</i> unter dem Einfluss der Textilextrakte	43
5.2.1	Wachstum von <i>Staphylococcus aureus</i> unter dem Einfluss der Extrakte F1	43
5.2.2	Wachstum von <i>Staphylococcus aureus</i> unter dem Einfluss der Extrakte F2.....	45
5.2.3	Wachstum von <i>Staphylococcus aureus</i> unter dem Einfluss der Extrakte F3	47
5.2.4	Wachstum von <i>Staphylococcus aureus</i> unter dem Einfluss der Extrakte G5	49
5.2.5	Wachstum von <i>Staphylococcus aureus</i> unter dem Einfluss der Extrakte V1	51
5.2.6	Wachstum von <i>Staphylococcus aureus</i> unter dem Einfluss der Extrakte V2	53
5.2.7	Wachstum von <i>Staphylococcus aureus</i> unter dem Einfluss der Extrakte V3	55
5.2.8	Wachstum von <i>Staphylococcus aureus</i> unter dem Einfluss der Extrakte W2	57
6	Diskussion	59
6.1	Nachweis antimikrobieller Effekte von Textilextrakten auf <i>Escherichia coli</i> und <i>Staphylococcus aureus</i> mit Hilfe eines Mikroplattenephelometers	59
6.2	Antibakterielle Wirkung des Silbers	64
6.3	Wirkungsweise des Silbers.....	66
6.4	Monitoring des Bakterienwachstums mit Hilfe des Mikroplattenephelometers	67
7	Schlussfolgerung.....	70
	Literaturverzeichnis.....	72
	Abbildungsverzeichnis.....	81
	Tabellenverzeichnis	83
	Anhang	IV

1 Zusammenfassung

Schon aus der Antike sind uns Überlieferungen von „keimtötenden Wirkungen“ bekannt, die Edelmetallen zugeschrieben werden. So hat man schon vor Jahrtausenden Behälter aus Silber benutzt, um eine Verkeimung des Wassers verhindern zu können.

In der Gegenwart werden diese alten Erkenntnisse bei der Neusynthese von Textilien mit Silberionen zur Prophylaxe und Therapie von Erkrankungen, die durch Mikroorganismen verursacht werden, ausgenutzt. Die neuen Entwicklungskonzepte verdeutlichen sich in der Wirkungsweise von SeaCell® Active-Fasern (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen), welche bakterizide sowie fungizide Eigenschaften besitzen. Der Wirkstoff Silber wird dabei fest in die Cellulosestruktur der algeninkorporierten Faser eingebunden. Die antimikrobielle Wirkung der „intelligenten Faser“ wird gegenwärtig durch einen Suspensions- oder Agardiffusionstest nachgewiesen.

In der vorliegenden Arbeit sollte durch eine neue in-vitro Untersuchungsmethode, der Mikroplattennephelometrie, die antibakterielle Wirkung von Textilextrakten nachgewiesen werden. Bei diesem Verfahren wird die Trübung der Extrakte anhand des Streulichtes, welches in einem bestimmten Winkel zum Primärstrahl entsteht, in den Mikrotiterplatten gemessen. Durch die ermittelten Messdaten konnte bestätigt werden, dass die Laser-Nephelometrie in Mikrotiterplatten eine Methode ist, mit der das Monitoring des Wachstums von Mikroorganismen besser quantifizierbar und reproduzierbar ist, als mit den bisher verwendeten Verfahren (z.B. Agardiffusion).

Die hier durchgeführten Messungen im Mikroplattennephelometer an *Escherichia coli* ATCC 35218 und *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 erfolgten mit dem Ziel, den Einfluss von Textilextrakten auf das Wachstum der Bakterien zu untersuchen. Die verwendeten Extrakte wurden nach der DIN-Norm EN ISO 10993-12 zur Testung von Textilien hinsichtlich ihrer Cytotoxizität, in einer Konzentration von 200 mg/mL hergestellt.

Die von Hipler et al. (2005) publizierten Ergebnisse von Untersuchungen, die mit Hilfe der Agardiffusion gewonnen wurden, konnten somit auch durch den Einsatz der Laser-Nephelometrie bestätigt werden. Dabei wurde deutlich, dass die Verringerung der Keimzahlen vom Vorhandensein und der entsprechenden Dosierung von SeaCell® Active-Fasern (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen) abhängig ist.

Auf Grund der ermittelten Ergebnisse der Messungen, lassen sich die getesteten Extrakte in drei große Gruppen untergliedern.

Die in-vitro Untersuchungen der reinen SeaCell® Active-Faser F1 (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen 100 %), weisen bakteriozide Effekte auf, die an beiden Bakterienstämmen nachgewiesen wurden. Im Gegensatz dazu konnte bei den Untersuchungen der ohne Silber angereicherten Textilien, bei der algeninkorporierten Lyocellfaser F2 (Lyocell/ Alge 100%), der reinen Lyocellfaser F3 (Lyocell 100%), sowie dem wasserstrahlverfestigten Vlies V3 (Lyocell 100%) keine hemmende Wirkung auf beide Bakterienspezies festgestellt werden.

Eine signifikante Verlängerung der Latenzphase beider Bakterienstämme konnte bei den Extrakten nachgewiesen werden, deren SeaCell® Active-Faser (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen) Gehalt entweder weniger als 100% beträgt, oder bei der durch die Verarbeitungsform die antibakterielle Eigenschaft der Faser in ihrer Wirksamkeit verloren geht. Das konnte bei den hergestellten Textilextrakten des wasserstrahlverfestigten Vlieses V1 (SeaCell® Active 20%, Lyocell 80%) sowie des wasserstrahlverfestigten Vlieses V2 (SeaCell® Active 100%), des Gewebes W2 (Lyocell 85%, SeaCell® 10%, SeaCell® Active 5%) und des Gestrickes G5 (SeaCell® Active 10%, SeaCell® 20%, Lyocell 70%) beobachtet werden.

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen die hohe Effizienz des Einsatzes eines Mikroplattennephelometers bei Untersuchungen des Wachstumsverhaltens von Mikroorganismen gegenüber Extrakten aus Textilien und Geweben. Die Forderung nach derartigen Testverfahren erlangt zunehmend an Bedeutung, insbesondere bei der Herstellung von Arbeitsschutzbekleidung, Outdoortextilien und medizinischer Kleidung. Durch den Einsatz von SeaCell® Active-Fasern (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen) und deren antibakteriellen Wirksamkeit ergeben sich neue Aspekte bei der medizinischen Anwendung der Therapie dermatologischer Erkrankungen, z.B. bei der Neurodermitis.

Darüber hinaus versucht man durch die Anwendung solcher Stoffe die Beständigkeit von technischen Textilien, Haushaltstextilien und Lederwaren gegen auftretende mikrobielle Schäden zu verlängern.

2 Einleitung

2.1 Vorwort

Mikroorganismen sind meist einzellige Lebewesen. Sie begleiten uns zivilisierte Menschen in den verschiedensten Formen, häufig auch unbemerkt. Vor allen Dingen wird die Hautflora von diesen oftmals auch Krankheiten induzierenden Bakterien, Pilzen oder Viren besiedelt. Von der Haut gelangen diese Mikroorganismen durch engen Kontakt in textile Materialien, wo sie insbesondere durch ihre Stoffwechselprodukte bei längerer Verweildauer oder ungenügender Reinigung nicht nur zu unangenehmer Geruchsbildung, sondern auch zu Krankheiten und Allergien führen können.

In den letzten Jahren haben Wissenschaft und Industrie durch den Einsatz bestimmter neu entwickelter Fasern versucht, antimikrobielle Textilien zu entwickeln, die die Besiedlung der Haut durch Mikroorganismen hemmen bzw. bekämpfen. Unter dem Begriff „antimikrobieller Kleidung“ findet man heute solche Textilien in Sportbekleidung, Unterwäsche, Arbeitskleidung und Hygieneartikeln, die insbesondere gut für Allergiker geeignet sind.

2.2 Epidemiologie und Faktoren der atopischen Dermatitis

Die atopische Dermatitis (AD) ist eine chronisch rezidivierende, zu meist stark juckende Erkrankung der Haut. Sie hat die höchste Prävalenz in den ersten vier Lebensjahren und tritt in der Regel in den ersten sechs Lebensmonaten in Erscheinung, bei genetisch prädisponierten Kindern sogar schon unmittelbar nach der Neonatalperiode. Bei ungünstigem schweren Verlauf kann sie in ein Asthma bronchiale oder in eine allergische Rhinokonjunktivitis übergehen (Saarinen 1995, Bergmann 1998). Die Prognosen der Erkrankung werden durch eine Reihe von Faktoren bestimmt.

Zu einem ungünstigen Krankheitsverlauf tendieren Patienten mit mehreren an AD erkrankten Familienmitgliedern, die an assoziiertem Asthma bronchiale, allergischer Rhinitis und trockener Haut leiden. Einer der häufigsten Manifestationsformen dieser Erkrankung ist das atopische Ekzem. Dabei ist die Kleidung, neben starkem Schwitzen, Hitze und Fieber einer der wesentlichsten Provokationsfaktoren des atopischen Ekzems. Der Unterschied zwischen den unspezifischen, irritativen Faktoren und den spezifischen, allergischen Reaktionen ist zu beachten. Während das irritative Potential bestimmter Textilien eine große Zahl von Patienten mit atopischen Ekzem betrifft und besonders im Kindesalter durch einen erhöhten Juckreiz zu einer starken Verschlechterung des Krankheitsbildes führen kann, sind allergische Reaktionen auf Textilien sehr selten.

Seit über 100 Jahren wird die Rolle mikrobieller Faktoren in der Pathogenese des atopischen Ekzems diskutiert (Zeisler 1885). Nach heutigen Erkenntnissen geht man davon aus, dass die Besiedlung der Haut mit *Staphylococcus aureus* einer der wesentlichsten Triggerfaktoren für die Entstehung und Unterhaltung einer ekzemtypischen Entzündungsreaktion ist.

Diese Kolonisierung führt zu einer anhaltenden Aktivierung des Immunsystems der Patienten mit atopischem Ekzem. Dabei kommt den Staphylococcussuperantigenen bei der Exazerbation der Erkrankung eine Schlüsselrolle zu. Superantigene induzieren den Glukokortikoidrezeptor GR- β auf Entzündungszellen, was zu einer verminderten Wirksamkeit von Glukokortikoiden führt und somit die erhöhte Chronizität dieser Hauterkrankung begründet (Cardona et al. 2006, Hauk et al. 2000). Ein Teil der an einem atopischen Ekzem erkrankten Patienten entwickelt gegen dieses Superantigen IgE Antikörper. Somit müssen diese Superantigene nicht nur als Toxine, sondern darüber hinaus auch als potente Antigene beschrieben werden (Bunikowski et al. 1999, Numora et al. 1999).

Viel diskutiert wird die Frage, ob der Schweregrad der Hautveränderungen mit dem Vorkommen von Superantigen produzierenden *Staphylococcus aureus*-Stämmen korreliert. Während einige Autoren einen Zusammenhang fanden (Bunikowski et al. 1999, Numora et al. 1999), konnten andere keine Korrelation feststellen (Mempel et al. 2003).

Dabei gibt es zwischen der Kolonisierung der Haut mit *Staphylococcus aureus* signifikante Unterschiede zwischen Gesunden und Patienten mit atopischem Ekzem. Während eine klinisch unauffällige Haut nur mit 2-25% besiedelt ist, findet man das Bakterium auf 76-100% der Hautoberfläche bei Patienten mit Merkmalsausprägung. Diese erhöhte Besiedlungsrate kann man nicht nur auf läsionaler Haut, sondern auch auf unbefallenen Hautarealen nachweisen (Aly 1977, Dahl 1983). Verschiedene Mechanismen gewährleisten eine dauerhafte Besiedlung von *Staphylococcus aureus* auf der menschlichen Haut. Das Bakterium ist befähigt, verschiedene Adhäsine, zum Beispiel Protein A, „clumping factor“, Koagulase und das fibronektinbindende Protein, welches eine Hauptrolle spielt, zu bilden (Mempel 1998). Dieses Protein kann mit Fibronektin und Fibrinogen reagieren (Wann 2000). Der Adhäsion folgend, kommt es zur Zellschädigung, die mit dem Verlust der Zellintegrität verbunden ist (Mempel et al. 2002). Dabei ist das α -Hämolysin das potenziell gefährlichste Staphylococcentoxin, weil es durch die Bildung von Poren in der Zellmembran zum Zelluntergang führt (Walev et al. 1993).

Therapeutische Ansätze, die zu einer Verminderung oder zu einer Elimination von *Staphylococcus aureus* führen und somit den Heilungsverlauf atopisch veränderter Haut positiv beeinflussen, sind Gegenstand vieler Diskussionen. Dabei ist bekannt, dass eine Entzündungshemmung zu einer Reduktion der Keimzahl führt (Guzik et al. 2005, Pournaras et al. 2001, Remitz et al. 2001, Schnopp et al. 2002).

In vielen Fällen erfolgt dies meist in Kombination mit einer antibakteriellen Therapie (Breuer et al. 2002, Williams 2000). Allerdings ist eine langfristige lokale Anwendung von Antibiotika, wegen der Ausbildung möglicher Resistenzen, nicht empfehlenswert (Peeters 2004, Shah 2003). Ein neu entwickeltes Konzept prädestiniert die Verwendung von Textilien, in die Silber eingearbeitet wird. Auf der Haut getragen, entfaltet das Silber eine antimikrobielle Wirkung und führt somit zu einer signifikanten Verminderung der Besiedlung mit *Staphylococcus aureus*. Ob dadurch eine Verbesserung des atopischen Ekzems zu erreichen ist, wird momentan an zahlreichen klinischen in-vivo Studien getestet (Fischer et al. 2003).

Epidemiologische Studien beweisen, dass die Prävalenz atopischer Erkrankungen bei Kindern seit dem zweiten Weltkrieg kontinuierlich zunimmt (Williams 1992, Aberg 1995). Burr konnte einen dramatischen Prävalenzanstieg dieser Erkrankung von 1973 gegenüber dem Jahr 1988 bei Kindern aus Wales/England nachweisen. Die Prävalenz war bei den untersuchten Kindern von 5% auf 16% in diesem Zeitraum angestiegen (Burr 1998).

Die Krankheit unterscheidet sich je nach Alter der Patienten und verläuft mit nächtlichen Kratzanfällen meist episodenhaft. Neben Extremvarianten (Erythrodermie) kennt man auch Minimalvarianten, z.B. Fingerkuppen- oder Ellenbogenekzem.

2.3 SeaCell® Active

Die menschliche Haut ist die äußere Oberfläche des Körpers und damit eine Grenzschicht gegen die Umwelt. Sie ist Speicherorgan, Thermoregulator, Sinnesorgan, Ausscheidungsorgan, Ort der Vitaminbildung und bietet Schutz vor mechanischen, chemischen sowie physikalischen Einflüssen. Jeder spezifische Hauttyp hat seine eigene Physiologie und kann sich mehr oder weniger gegen äußere Stressfaktoren schützen.

Da unsere Kleidung in einem intensiven Kontakt mit der Haut steht, kommt ihr eine Schlüsselfunktion als Provokationsfaktor für das Entstehen von Hauterkrankungen und bei der Bewältigung verschiedener Reizzustände zu, welche sehr häufig durch Bakterien- oder Pilzbefall verursacht bzw. begleitet werden.

Auf Grund dieser Erkenntnisse ist in den letzten Jahren die Nachfrage nach „intelligenten Textilien“, die zum Beispiel den Bakterien- und Pilzbefall hemmen, stark angestiegen.

Entwickelt wurde dazu u.a. eine natürliche Cellulosefaser mit antimikrobiellen Eigenschaften, SeaCell® Active (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen). Dabei bildet das Zimmer-Lyocell-Verfahren die Grundlage für die Herstellung der SeaCell® Fasern (Zikeli 2001). Diese speziellen Fasern bestehen aus fein gemahlenem Algenmaterial aus der Gruppe der Blau-, Braun-, Grün- und Rotalgen, die zudem noch die Fähigkeit besitzen, Stoffe binden und absorbieren zu können. Dadurch können antibakteriell und antimykotisch wirkende Metalle wie Kupfer, Silber und Zink in die natürliche Cellulosefaser eingearbeitet werden (Zikeli 2002). Die Braunalge *Ascophyllum nodosum* und die Rotalge *Lithothamnium calcareum* sind dafür besonders geeignet (Zikeli 2001).

Bei dem ZIMMER-Lyocell-Verfahren wird gemahlenes Algenmaterial pulverförmig oder als Algensuspension direkt der Cellulose, der Cellulosemaische oder der Spinnlösung zugeführt. Diese Zellulosespinnlösung wird mittels des Lösungsmittels N-Methylmorpholin-N-Oxid hergestellt. Die so erhaltene Cellulose-Algen-Spinnlösung wird später zu einer algeninkorporierten Lyocell Faser gesponnen (Abb.1).

Nach einer abschließenden Waschung kommt es zur Aktivierung. Bei diesem Schritt wird die Fähigkeit zur Bindung von Metallen ausgenutzt. Auf diese Weise wird das Silber bis in den Kern der fertig geformten SeaCell® Faser dauerhaft eingebracht. Über freie Carbonyl-, Carboxy- und Hydroxyl-Gruppen der inkorporierten Alge und der Cellulose wird dabei das Silber gebunden. Durch die Bildung von Chelatkomplexen können die Phenole der Algen diese Stoffe binden (Zhou et al. 2004, Pedersen 1984).

Da die Erkenntnisse der antibakteriellen und der antimykotischen Wirkung von Silberionen und deren sehr selten vorkommenden Nebenwirkungen schon seit über einem Jahrhundert bekannt sind, wird Silber als Aktivierungsmittel zur Herstellung der SeaCell® Active-Fasern bevorzugt verwendet (Freudiger 2004).

Die gleichmäßige Verteilung der Algen über den gesamten Faserquerschnitt und das Quellverhalten der Cellulose garantieren, dass das Silber dauerhaft in die Matrix eingebracht werden kann. Eine geringe Abgabe von Silberionen aus dem Celluloseverband gewährleistet eine nahezu dauerhafte antibakterielle Wirkung. Somit wird auch gesichert, dass der Tragekomfort der cellulosischen Faser erhalten bleibt und es nicht zu Reizungen der Haut kommt (Lansdown 2002, Williams 1989). Dies wurde durch quantitative Analysen mittels Atomabsorptionsspektroskopie und Kryobrush mit anschließender Darstellung im Rasterelektronenmikroskop untersucht.

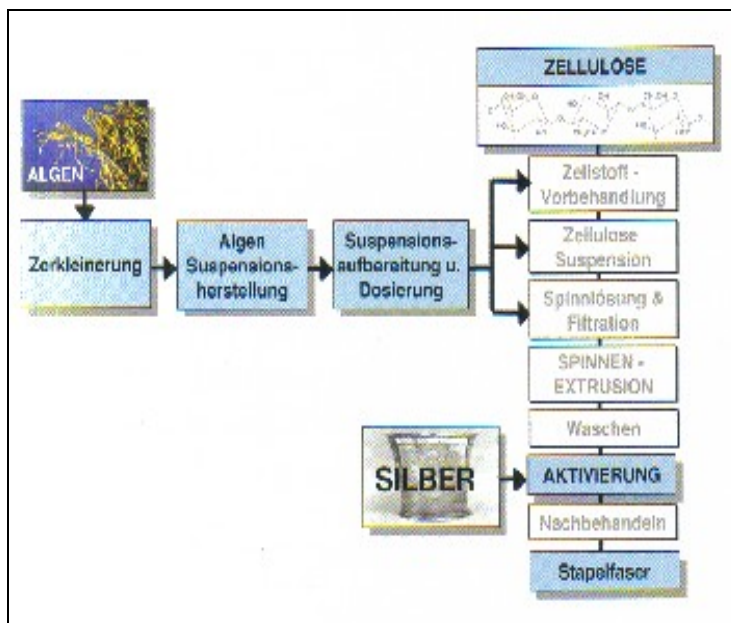


Abbildung 1: Schematische Darstellung des Herstellungsprozesses von SeaCell® Active-Fasern .

Die Herstellung der SeaCell® Active-Faser wird als umweltfreundlich beschrieben, da die Faser aus natürlichen Komponenten wie Cellulose, Algen und Silber besteht.

Schon seit längerer Zeit werden Meeresalgen in der Kosmetik- und in der Pharmaindustrie angewendet. Ausgenutzt wird dort die Bindung verschiedener Mineralien wie Calcium, Magnesium und Natrium, die zur Homeostase der Haut beitragen können. Außerdem werden Aminosäuren, Fette, Kohlenhydrate und Vitamine von der Meeresalge aus dem Meerwasser aufgenommen (Hipler et al. 2005).

2.4 Nephelometrie

Der Begriff stammt aus dem griechischen und bedeutet so viel wie Nebel oder Wolke. Die Laser-Nephelometrie ist ein quantitatives analytisches Verfahren, bei dem mittels eines Mikropplattenephelometers der Trübungswert von Flüssigkeiten oder Gasen gemessen wird. Dabei beruht die Wirkungsweise auf dem physikalischen Prinzip der Lichtstreuung, dem Tyndall-Effekt (Hipler et al. 2003). Der irische Physiker Tyndall untersuchte 1868 die Lichtstreuung in kolloidalen Lösungen und beobachtete die Streuung elektromagnetischer Wellen an suspendierten kleinen Teilchen.

Durchdringt sichtbares Licht eine Suspension, so wird das eingestrahelte Licht durch Absorption, Reflexion und Streuung beeinflusst. Diese physikalischen Gesetzmäßigkeiten bilden die Basis der Nephelometrie. Mit dem ermittelten Trübungswert wird das qualitative Phänomen der Trübung quantitativ erfasst.

Ziel der nephelometrischen Untersuchung ist es, Informationen über den Gehalt an streuenden Partikeln in einer flüssigen Suspension zu erhalten (Hipler et al. 2003). Dies kann durch die Messung der Intensität des seitlichen Streulichts (Streuintensität) oder durch die Bestimmung des Lichtverlustes des transmittierten Strahls (Streuungskoeffizient) ermittelt werden. Die Streuintensität gibt an, wie viel Streulicht unter einem bestimmten Winkel abgelenkt wird. Dem hingegen entspricht die Gesamtheit des Streulichts, das dem einfallenden Lichtstrahl entzogen wurde, dem Streukoeffizient.

Die Wirkungsweise der Laser-Nephelometrie besteht darin, dass der direkte Strahl ausgeschaltet und das nach vorn gestreute Licht durch Linsen auf einer Photodiode oder einem Photomultiplier gesammelt wird (Hipler et al. 2003). Je mehr Partikel in der Lösung sind oder je trüber die Suspension ist, desto größer ist auch die Menge des gestreuten Lichts, welches in Nephelometer-Units gemessen werden kann. Die Energie des gestreuten Lichts ist der Partikelkonzentration der Suspension gegenüber direkt proportional (Bevan und Lloyd 2000). Die Nephelometrie wird heute gegenwärtig zum Beispiel bei der Messung von Partikelkonzentrationen in einer flüssigen Suspension (Löslichkeitstests) und bei der Messung der Partikelpräzipitation in einem flüssigen Medium (Immunpräzipitation) angewandt.

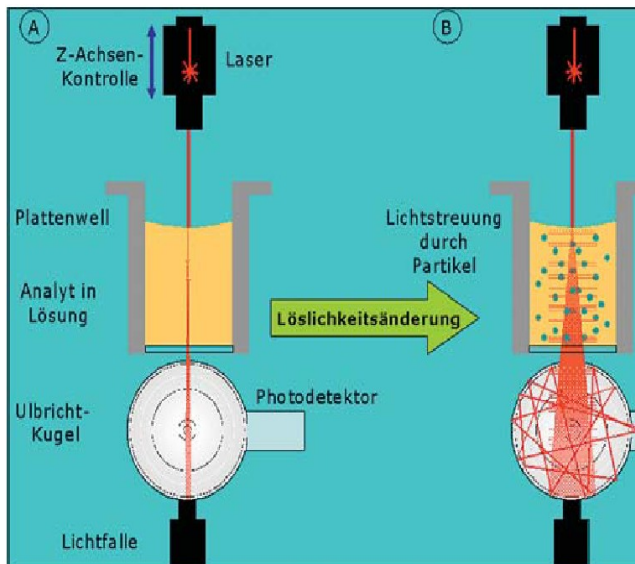


Abbildung 2: Schematische Darstellung des Messprinzips eines Mikroplattennephelometers.

2.5 *Escherichia coli*-Bakterien

Theodor Escherich beschrieb 1885 als erstes spezifisches Darmbakterium, das später nach ihm benannte Bakterium, *Escherichia coli* (Hof et al. 2000).

Escherichia coli gehören zu den gramnegativen Bakterien und sind sporenlose, peritrich begeißelte, bewegliche Stäbchen (Hof et al. 2000). Sie sind primäre Keime des Gastrointestinaltraktes, welche mit einer Reihe von Erkrankungen assoziiert werden. Durch die pathogenen Keime können gesunde Menschen an einer Gastroenteritis oder anderen Darminfektionen erkranken. Bei Patienten mit einem geschwächten Immunsystem hingegen kann es zur Ausbildung einer Harnwegsinfektion, Pneumonie oder Sepsis kommen, besonders dann, wenn Fremdmaterial, wie zum Beispiel ein Blasenkatheter, eingebracht worden ist (Trautmann 1995). Das Bakterium ist die bedeutungsvollste Spezies in der Gattung *Escherichia*. Darüber hinaus werden noch drei weitere Spezies differenziert, *Escherichia fergusonii*, *Escherichia hermanii* und *Escherichia vulneris*, welche allerdings beim Menschen nur äußerst selten vorkommen (Hof et al. 2000).

Entscheidend für die Auslösung eines bestimmten Krankheitsbildes sind, neben den wirtsspezifischen Faktoren, die Anzahl der Erreger und die Pathogenitätsfaktoren der invasiven Keime, die eine direkte Wirkung auf den Organismus ausüben oder die die Wirkung anderer Faktoren erst ermöglichen. Bedingung für eine Wirkung des Bakteriums auf den Zielorganismus ist meist der enge Kontakt und die Anheftung an die Zielzelle durch spezifische Adhäsine. Danach führen die Faktoren der invasiven Erreger zu Veränderungen innerhalb der Zelle. Im nächsten Abschnitt der Infektion spielen dann Faktoren eine Schlüsselrolle, die nach Eindringen der Erreger in die Blutbahn auch auf andere Organe des infizierten Organismus wirken (Hampel 1995). Nach diesen Pathomechanismen können pathogene *Escherichia coli*-Bakterien verschiedener Serotypen in die folgenden Hauptgruppen eingeteilt werden: *enteropathogene Escherichia coli*, *enterohämorrhagische Escherichia coli*, *enterotoxinbildende Escherichia coli* und *enteroinvasive Escherichia coli* (Brett und Heintschel von Heinegg 1998).

2.5.1 Enteropathogene *Escherichia coli* (EPEC)

Diese Stämme verursachen vor allem in den Entwicklungsländern und bei auftretenden Epidemien in Kindertageseinrichtungen die sogenannte Säuglingsdiarrhoe. Das Bakterium ist nach seiner Eigenschaft benannt, deutlich sichtbare Veränderungen an den Mucosazellen des Darms hervorzurufen, indem sich die Erreger an die membranösen Zellen der Peyer-Lymphfollikel binden und den mukösen Überzug unterbrechen (Trautmann 1995).

Aufgrund der mangelhaften hygienischen Verhältnisse in den Ländern der dritten Welt kann diese Infektion bei den Erkrankten zu ausgedehnten und anhaltenden Durchfällen führen und nicht selten mit einem schweren bis tödlichen Verlauf einhergehen.

2.5.2 Enterohämorrhagische *Escherichia coli* (EHEC)

Die Bakterien besiedeln ursprünglich asymptomatisch den Darm von Kälbern (Hancock 1994). Daher werden die meisten Krankheitsfälle durch kontaminierte Lebensmittel, insbesondere Rinderhackfleisch, verursacht (Griffin 1991, Riley 1984). In einzelnen Fällen wurde auch über eine Übertragung durch unpasteurisierte Milch (Kennedy 1980), verunreinigtes Trinkwasser und durch mit Kuhdung kontaminierte Pflanzen (Keene 1994) berichtet. Auch die Übertragung von Mensch zu Mensch kann derzeit nicht ausgeschlossen werden (Rowe 1993). Ähnlich wie bei den EPEC sind die Infektionen durch die Anheftung der enterohämorrhagische *E. coli* an die Mikrovilli und deren Elongation gekennzeichnet (Tzipori 1989, Francis 1986).

2.5.3 Enterotoxinbildende *Escherichia coli* (ETEC)

Die sogenannte Reisediarrhoe wird vor allem durch die fäkal-orale Kontaktinfektion übertragen, am häufigsten durch nicht abgekochtes Wasser oder durch Salatgemüse. Dabei muss die Anzahl der aufgenommen Erreger groß genug sein, um die Abwehrbarriere, die Magensäure des Menschen, überwinden zu können (Trautmann 1995). Die Erreger verursachen ein der Cholera ähnliches Krankheitsbild, wobei es zu Durchfall kommt, welcher von Erbrechen und Fieber begleitet ist.

2.5.4 Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC)

Die Bakterien werden nach ihrer Eigenschaft benannt, aktiv in Mukosazellen des Darms einzudringen, wobei sie dadurch eine signifikante Entzündungsreaktion provozieren (Trautmann 1995). Im Gegensatz zu den ETEC, kommt es zu deutlichen histologisch erfassbaren Veränderungen mit Verlust der Mikrovilli. Die klinischen Manifestationen sind die der bakteriellen Dysenterie mit Fieber und blutiger Diarrhoe, welche typischerweise polymorphkernige Leukozyten enthält (Trautmann 1995).

2.6 *Staphylococcus aureus*-Bakterien

Die Bezeichnung für das Bakterium *Staphylococcus* stammt aus dem griechischen und bedeutet „traubenförmig“. Es zählt zu den aerob oder fakultativ anaerob lebenden, grampositiven, unbeweglichen, katalasepositiven Haufenkokken und gehört der Familie der *Micrococcaceae* an (Brett und Heintschel von Heinegg 1998). Aus klinischen Gesichtspunkten wird dieses Bakterium in ein koagulasepositives und koagulasenegatives Spezies unterschieden (Trautmann 1995).

Die *koagulasenegativen Staphylococcen* sind Besiedler der gewöhnlichen Flora von Haut, Schleimhäuten sowie des Enddarmes und werden in 21 Arten unterteilt. Dazu zählen *Staphylococcus epidermidis* (auch *Staphylococcus albus* genannt), Erreger von Haut und Schleimhauterkrankungen und auch nosokomialer Infektionen, welche bevorzugt über inkorporierte venöse Katheter entstehen und *Staphylococcus saprophyticus*, häufiger Verursacher von Harnwegsinfektionen (Trautmann 1995).

Zu den *koagulasepositiven Staphylococcen* zählt *Staphylococcus aureus*, welcher Besiedler und Infektionserreger bei Mensch und Tier ist. Er kann im Normalfall im Vestibulum nasi, den Axillen, gelegentlich im Perineum und der Vagina nachgewiesen werden (Brett und Heintschel von Heinegg 1998). *Staphylococcus aureus* produziert das Enzym Koagulase, welches durch die Bindung an Prothrombin im Serum die Entstehung von Fibrin aus Fibrinogen aktiviert.

Die Ursache für eine Infektion mit *Staphylococcen* ist eine Kombination aus bakteriellen Virulenzfaktoren sowie der Verminderung der körpereigenen Abwehrkraft. Zu den wichtigsten mikrobiologischen Eigenschaften zählt die Fähigkeit der Anpassung an extreme Lebensbedingungen, die Produktion von Enzymen und Toxinen, welche eine Gewebeinvasion fördern, die Möglichkeit in Phagozyten zu persistieren und das Potential, Resistenzen gegenüber Antibiotika zu entwickeln (Trautmann 1995).

Die Krankheitsbilder, die durch *Staphylococcus aureus* hervorgerufen werden, sind vielgestaltig. Sie können als lokale Erkrankung der Haut und ihrer Anhangsgebilde in Form des atopischen Ekzems, Furunkel, Karbunkel und Impetigo, als Weichteilabszesse oder tiefer lokalisiert als Mastitis puerperalis, als Osteomyelitis oder Pneumonie auftreten. Ausgehend von einer lokalen Infektion kann es durch Invasion in die Blutbahn zu einer Sepsis oder Endokarditis kommen (Brett und Heintschel von Heinegg 1998).

2.7 Die Bedeutung von Silber in der Medizin

Reines Silber ist ein weißglänzendes, weiches, dehnbares und leicht verformbares Metall.

Eigentlich ist es ein in sich stabiles Edelmetall, sein Ion jedoch ein äußerst reaktives Teilchen. Die Wirkungen dieser Silberionen auf biochemischer Ebene sind noch nicht vollständig geklärt. Silber besitzt die Eigenschaft sich intrazellulär an die denaturierte bakterielle DNA und RNA zu binden, was zu einer Hemmung der Replikation führt. Weiterhin wird die bakterielle Zellatmung unter dem Einfluss von Silber gehemmt. Bei zahlreichen Untersuchungen, die die Wirkung von Silbernitrat auf *E. coli* und *S. aureus* untersuchten, wurde ein Ablösen der Zellmembran von der Zellwand beobachtet (Feng et al. 2000).

Ob die Keime in der Lage sind, Resistenzen gegenüber Silber zu entwickeln, kann zum heutigen Zeitpunkt noch nicht genau beantwortet werden. Dafür spricht der erbrachte Nachweis von Resistenzgenen bei *E. coli* an bakteriellen Plasmiden (Probenentnahmen an silberbeschichteten Kathetern) mittels molekulargenetischer Methoden (Silver 2003). Gegensätzliche Meinungen stützen sich darauf, dass keine Kreuzresistenzen dieser gramnegativen Bakterien mit Antibiotika und auch keine Induktion von antimikrobiellen Resistenzen durch Silberionen bekannt sind (Guggenbichler 1999).

Die ersten neuzeitlichen medizinischen Anwendungen von Silber in Form von 1%igem Silbernitrat wurde von Credé beschrieben und praktiziert (Crede 1881). Er wandte dieses Präparat zur vorbeugenden Behandlung gegen Gonoblennorrhoe beim Neugeborenen an. Crede hatte mit diesem Mittel Erfolg und verhinderte so diese, durch *Neisseria gonorrhoea* verursachte, eitrige Bindehautentzündung, die mit nachfolgender Erblindung verbunden sein kann. Darüber hinaus konnte in vielen in-vivo Studien die antimikrobielle Wirkung von silberbeschichteten Blasenkathe tern festgestellt werden. Zum Beispiel ermöglichte ein mit silberlegiertem Hydrogel beschichteter Blasenkatheter eine signifikante Reduzierung von Urotraktinfektionen bei Kurzzeitkatheterisierung (Maki 2001).

Weiterhin ist die Behandlung von chronisch offenen Wunden, Brandwunden und diabetischem Ulkus eine Indikation für die Verwendung von Wundauflagen mit integrierten Silberionen. Wegbereiter für diese Wundauflage war Silbersulfadiazin, bei dem ein weitreichender antibakterieller Wirkungskreis beschrieben worden ist (Hamilton-Miller 1993).

Auch in der konservativen Zahnheilkunde wurde der Einfluss von Silberionen untersucht und beschrieben. Ein bakterielles Problem besteht in der Zahnheilkunde z.B. in der Pathogenese einer Parodontitis. Dahingehend wurde in-vitro die Wirkung von Silberzeolit gegen orale Bakterien unter anaeroben Bedingungen untersucht.

Die Ergebnisse der Autoren deuten an, dass Silberzeolit in Dentalmaterialien seine antibakterielle Aktivität unter anaeroben Bedingungen, wie sie in der Tiefe einer parodontalen Tasche vorkommen, entfalten kann (Kawahara et al. 2000). Deswegen konnte im Rahmen vieler in-vitro Studien mit Silbernitrat eine hohe antibakterielle Aktivität gegen die häufig auftretenden Parodontalkeime wie *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* und *Actinobacillus actinomycetemcomitans* nachgewiesen werden. Die therapeutische Möglichkeit des Silbernitrates als potentiell Agens zur Behandlung der Parodontitis wird von Spacciapoli in Erwägung gezogen (Spacciapoli 2001).

3 Ziele der Arbeit

Gegenstand dieser Arbeit ist die Untersuchung des Wachstums von *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* mit Hilfe der Mikroplattennephelometrie. Außerdem soll der Einfluss von Textilextrakten auf das Wachstumsverhalten von *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* durch diese Methode überprüft werden.

In Anlehnung an die DIN-Norm EN ISO 10993-12 zur Testung von Textilien hinsichtlich ihrer Cytotoxizität, sollen entsprechende Textilextrakte hergestellt werden. Diese Extrakte werden dann für die Untersuchung gegenüber *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* in dem Mikroplattennephelometer eingesetzt.

Die bereits von Hipler et al. (2005) publizierten Ergebnisse der Testung von Textilien mit Hilfe der Agardiffusion sollen in dieser Arbeit mittels der Mikroplattennephelometrie überprüft werden. Dabei soll untersucht werden, in wieweit die Methode der Mikroplattennephelometrie für bestimmte Textilien eine geeignete Testung darstellt, oder sogar Vorzüge dieser Methode gegenüber anderen Untersuchungsmethoden nachgewiesen werden können.

Bei bisherigen Versuchen zu dieser Fragestellung wurden in-vitro Testungen über 24 h durchgeführt. Dabei wurden die in der Mikrobiologie üblicherweise angewandten Tests zur Prüfung des Bakterienwachstums auf Agarplatten im Hemmhofversuch oder als Suspensionsmethode durchgeführt. Bei diesen Untersuchungen konnte eine hemmende Wirkung der Textilien auf das Bakterienwachstum von *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* beschrieben werden.

Es soll nach einer neuen Methode gesucht werden, die schneller, besser quantifizierbar und reproduzierbar ist. Die Durchführung dieser Messungen der Wachstumshemmung mit Hilfe eines Mikroplattennephelometers (Nephelostar Galaxy) sollte diesen geforderten Kriterien gerecht werden. Es ist der Nachweis zu erbringen, ob die Anwendung eines Mikroplattennephelometers in Zukunft mehr als nur eine Ergänzungsmöglichkeit für das Monitoring des Wachstums von Mikroorganismen sein kann.

4 Material und Methodik

4.1 Chemikalien

API NaCl 0,85% Medium	Fa. Biomerieux, Marcy-l'Etoile
Essigsäure(Acetat)	Fa. Carl Roth, Karlsruhe
Glucose-Bouillion	Fa. Oxoid, Basingstoke
ID 32 Staph (System zur Identifizierung von Staphylococcen)	Fa. Biomérieux, Marcy-l'Etoile
Isotonische Kochsalzlösung (0,9% NaCl)	Fa. Fresenius Kabi, Bad Homburg
Mc Farland-Standard (Standardreihe mit verschiedenen optischen Dichten)	Fa. Biomérieux, Marcy-l'Etoile
Mueller Hinton Hypersale E-Test (Mueller Hinton II Agar)	Fa. AES, Cedex
Mueller-Hinton Sang Mouton (Blutagar)	Fa. AES, Cedex
N-Acetyl-D-Glucosamin	Fa. SIGMA-Aldrich, St.Louis/ Steinheim
PBS-Tabletten (Phosphatpuffer)	Fa. SIGMA-Aldrich, St.Louis/ Steinheim
Universalindikator pH-Wert 0-14	Fa. Merck, Darmstadt

4.2 Geräte und Materialien

Biosafe eco (Brutschrank 37 °C)	Fa. Integra Bioscience, Vancouver
Breathe-Easy (Abdeckfolien für Mikrotiterplatten)	Fa. Diversified Biotech, Boston
Camedia C-5050 (Digitalkamera)	Fa. Olympus, Hamburg
Cell-Star PP- Test Tubes 15 mL (sterile Reagenzgläser aus Plastik)	Fa. Greiner bio-one, Frickenhausen
Colony counter (Kolonienzählgerät)	Fa. BEL-ART Scienceware, Pequannock
Densimat (Gerät zur Bestimmung der optischen Dichte von Flüssigkeiten)	Fa. Biomérieux, Marcy-l'Etoile
Gazin-Mullkompressen (10x10)	Fa Lohmann und Rauscher International GmbH, Rengsdorf
Gefrierschrank (-80 °C)	Fa. Kendro, Hanau
Gefrierschrank (-20 °C)	Fa. Liebherr
Glasflaschen (250 mL, 500 mL)	Fa. Schott, Jena

Handschuhe SafeSkin Purple Nitril-extra (unsteril)	Firma Kimberly-Clark, Roswell
Kühlschrank (7 °C)	Fa. Liebherr
Mini-API (Identifikation von <i>Staphylococcus aureus</i>)	Fa. Biomérieux, Marcy-l'Etoile
Mehrkanalpipette	Fa. Eppendorf, Hamburg
Microbank (Gefäße zum Einfrieren von Bakterienstämmen)	Fa. Pro-Lab Diagnostics, Neston
Nalgene, Porengröße 0.20 µm (sterile Filtration)	Firma Nalge Nunc International, Rochester
NEPHELOstar Galaxy (Nephelometer)	Fa. BMG Labtechnologies, Offenburg
PS Mikrotiterplatte 96 Wells steril	Fa. Greiner bio-one, Frickenhausen
Pipetten (verschiedene Größen)	Fa. Eppendorf, Hamburg
Retsch MM 301 (Schwingmühle mit Mahlbecher)	Fa Retsch GmbH, Haan
ROTANTA/RP (Zentrifuge)	Fa Hettich, Tuttlingen
Sartorius Minisart Porengröße 0.20 µm (sterile Filtration)	Fa Vivascience, Hannover
Schüttler KM-2 AKKU	Fa Johanna Otto GmbH, Hechingen
Spritzen Injekt (3 ml, 5 ml, 10 ml)	Fa B. Braun, Melsungen
sterile Ösen (verschiedene Größen)	Fa. Greiner bio-one, Frickenhausen
Tecnoflow (Laminarbox)	Firma Integra Biosciences, Allerød
Textilextrakte (u.a. SeaCell® Active und SeaCell® Faser)	Fa. ALCERU Schwarza GmbH, Rudolstadt
VARIOKLAV® Typ 400 (Dampfsterilisator)	Fa H + P Labortechnik GmbH, München
Waage	Fa. Sartorius, Göttingen
Wasserbadschüttler GLF-Typ 1083	Fa. Gesellschaft für Labortechnik GmbH, Burgwedel

4.3 Software

Microsoft Excel

NEPHELOstar Galaxy Version 4.30-0

SPSS

4.4 Untersuchungsmaterial

Die Textilproben wurden in verschiedenen Zusammensetzungen verwendet (siehe Tab. 1).

Tabelle 1: Probenschlüssel der Textilien.

Kodierung	Art der Textilie	Gehalt in %
F1	Faser	SeaCell [®] Active (Lyocell/ Alge/ Ag ⁺ -ionen) 100
F2	Faser	SeaCell [®] (Lyocell/ Alge) 100
F3	Faser	Lyocell 100
G5	Gestrick	SeaCell [®] Active 10 SeaCell [®] 20 Lyocell 70
V1	Wasserstrahlverfestigtes Vlies	SeaCell [®] Active 20 Lyocell 80
V2	Wasserstrahlverfestigtes Vlies	SeaCell [®] Active 100
V3	Wasserstrahlverfestigtes Vlies	Lyocell 100
W2	Gewebe Fa. Hefel	Lyocell 85 SeaCell [®] 10 SeaCell [®] Active 5

4.5 Extraktherstellung

4.5.1 Herstellung des textilen Untersuchungsmaterials

Die Herstellung der Textilextrakte erfolgte nach der DIN-Norm EN ISO 10993-12 für die Testung von Textilien gegenüber der Cytotoxizität.

Zunächst wurden die Textilproben mit Hilfe einer Schere zerkleinert. Es musste beachtet werden, dass die Stoffteile nicht größer als 0,25 cm² waren. Anschließend wurden vier bis sechs Gramm dieser Textilstücke in einen verschraubbaren 50 mL Mahlbecher aus rostfreiem Edelstahl gegeben. Dabei mussten die zerkleinerten Stücke locker im Mahlbecher liegen. Drei Mahlkugeln mit einem Durchmesser von 12 Millimetern zerkleinerten die Textilstücke, indem der Mahlbecher mittels Schwingmühle 5 Minuten bei einer Frequenz von 30 Hertz geschüttelt wurde. Nach Beendigung des Mahlvorganges, lag die Textilprobe in feingemahlener Form vor.

4.5.2 Herstellung der Extrakte

Zielstellung war es, eine möglichst große Textilmenge in die Glukose-Bouillon einzubringen. Da die zu untersuchenden Textilien eine unterschiedliche Zusammensetzung und auch Stoffdichte haben, erwies es sich als schwer, die entsprechend optimale Menge zu ermitteln. Nach mehreren Vorversuchen stellte sich heraus, dass eine Zusammensetzung von 2000 mg gemahlene Textil mit 10 mL Glucose-Bouillion das Optimum war und somit die gemahlene Textilmenge vollständig mit Glucose-Bouillion bedeckt war.

Es wurden 2000 mg gemahlene Textilprobe in einen sterilen Erlenmeyerkolben gegeben und im Anschluss für 15 Minuten bei einer Temperatur von 121 °C im Autoklaven autoklaviert, abschließend 10 mL Glucose Bouillion hinzugegeben und die Extraktlösung für 24 Stunden bei einer Temperatur von 37 °C in einen Wasserbadschüttler gestellt. Die somit gewonnene Konzentration entsprach 200 mg/mL. Die Extraktherstellung wurde in einer Laminarbox durchgeführt.

4.5.3 Filtration der Extrakte

Mit Hilfe des Wasserbadschüttlers wurden die entsprechenden Textilextrakte hergestellt. Um die verbliebenen festen und flüssigen Bestandteile zu trennen, wurde die Textilsuspension auf einer Mullkompressen in ein steriles Cellstar Plastikröhrchen eingebracht und mit einem Schraubverschluss fixiert. Um die restliche feste Phase in der Mullkompressen von der flüssigen Phase zu trennen, wurden die Plastikröhrchen fünf Minuten bei 2000 Umdrehungen pro Minute in einer ROTANTA/RP zentrifugiert.

Nach Entfernen der Mullkompressen verblieb die Flüssigkeit im Röhrchen. Um große Stoffpartikel zurückhalten zu können, wurde die Textilsuspension durch einen Faltenfilter in einen 50 mL Erlenmeyerkolben filtriert. Diese Arbeitsschritte erfolgten ebenfalls unter sterilen Bedingungen in einer Laminarbox.

Um das Vorhandensein von Bakterien und sonstigen Mikroorganismen beseitigen zu können folgte eine sterile Filtrierung mittels Nalgene-Filtersystemen mit einem Filter von 0,20 µm Porengröße. Die fertigen Extrakte wurden in sterile Cellstar Plastikröhrchen abgefüllt. Jedes Röhrchen enthielt dabei mindestens 4 mL des Extraktes. Im Anschluss wurden die Röhrchen im Gefrierschrank bei -18 °C eingefroren und bis zu ihrer Weiterverwendung darin aufbewahrt.

4.6 Verwendete Bakterienstämme und Bakterienanzucht

Die für die Untersuchungen verwendeten Stämme von *Escherichia coli* ATCC 35218 und *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 wurden bei $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ in Microbankgefäßen gelagert. Für die entsprechende Bakterienanzucht musste das spezifische Microbankgefäß aus dem Tiefkühlgerät genommen werden. Aus dieser Anzucht wurde unter aseptischen Bedingungen eine kleine Kugel mit einer sterilen Öse entnommen und auf einer Blutagarplatte ausgestrichen, die bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ für 24 Stunden in einem Brutschrank bebrütet wurde. Die Lagerung der Bakterienkulturen erfolgte dann bei Raumtemperatur im Labor. Einmal wöchentlich mussten die Kulturen auf frische Blutagarplatten überimpft werden.

Die Überprüfung der Identität von *Staphylococcus aureus* mit ID 32 Staph erfolgte bei diesem System anhand von spezifischen biochemischen Reaktionen, bei denen eine Identifizierung von Mikroorganismen möglich war. Auf Teststreifen mit 26 muldenförmigen Vertiefungen wurde die Bakteriensuspension einer 24 Stunden-Kultur aufgebracht. Nach 24 Stunden Inkubation bei $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ fand die automatisierte Auswertung mit mini-API statt.

4.6.1 Glucose-Bouillion

Während der Messreihen diente Glucose-Bouillion als Nährlösung für die Bakterien. Nach Herstellerangaben enthielt ein Liter 3 g Fleischextrakt Lab Lemco, 10 g Tryptose, 5 g Glucose und 5 g NaCl. Der pH-Wert betrug $7,0 \pm 0,2$. Es wurden 23 g in einem Liter Aqua dest. gelöst und anschließend die erhaltene Bouillion für 15 Minuten bei $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ autoklaviert.

4.7 Vorversuche

Bevor die eigentlichen Messungen durchgeführt werden konnten, musste die Keimzahl bestimmt sowie Standardkurven erstellt werden. Zusätzlich wurde der direkte Einfluss von Silbernitrat auf das Wachstum von *Escherichia coli* ATCC 35218 und *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 mittels eines Mikroplattennephelometers bestimmt.

Im Parallelversuch erfolgte für beide Bakterienstämme die Bestimmung der Wachstumskurven ohne die Einwirkung von Textilextrakten, um so aus den gewonnenen Ergebnissen die Ausgangskeimzahlen für die Messung festlegen zu können.

4.7.1 Keimzahlbestimmung

Da Bakterien aufgrund ihrer geringen Größe für die elektronische Zellzählung z.B. Casy 1 TT (Gerät zur Zellzahlbestimmung) nicht zugänglich sind, erfolgte die Bestimmung entsprechend einer Arbeitsanweisung der Klinik für Dermatologie der FSU Jena durch Auszählung einzelner Kolonien auf einer Agarplatte.

Für die Herstellung einer Bakteriensuspension Mc Farland 0,1 am Densimat wurde mit einer Öse einer Bakterienreinkultur Material entnommen und in einer Ampulle API NaCl 0,85% Medium gelöst, um diese anschließend unter ständiger Kontrolle am Densimat bis zur gewünschten Trübung verdünnen zu können. Analog dieser beschriebenen Methode wurde bei der Herstellung aller nachfolgenden Bakteriensuspensionen mit bestimmtem Mc Farland vorgegangen. Die Verdünnung der Bakterien-Suspension erfolgte mit isotoner Kochsalzlösung im Mischungsverhältnis 1.10, 1.100, 1.1000, 1.10000, 1.100000 und 1.1000000. Die Herstellung der Verdünnungen erfolgte durch Entnahme von 0,1 mL der jeweils höheren Konzentration und entsprechender Ergänzung durch 0,9 mL Kochsalzlösung.

Auf eine Müller Hinton Agarplatte wurde 0,1 mL jeder Verdünnung pipettiert, auf dieser gleichmäßig verteilt und anschließend für 24 Stunden unter aeroben Bedingungen bei 37 °C inkubiert. Die Auswertung erfolgte dann am darauffolgenden Tag.

Mit Hilfe von Colony counter und Mini light box wurden die Kolonien auf den Platten ausgezählt, die Anzahl notiert und anschließend mit dem Verdünnungsgradienten multipliziert. Für jeden Bakterienstamm wurde diese Bestimmung dreimal durchgeführt.

Aus den Einzelergebnissen errechnete sich ein Mittelwert, der die Keimzahl in KBE/ml für einen Mc Farland 0,1 angibt. Hieraus konnten dann die Keimzahlen für andere Mc Farland bestimmt werden.

4.7.2 Standardkurven

Für die in der Messung verwendeten Bakterienstämme wurden Standardkurven ermittelt. Das Ziel war, die von dem Nephelometer angegeben relativen Einheiten (Nephelometer Units) in Keimzahlen umrechnen zu können. Hierfür mussten am Densimat mehrere Bakteriensuspensionen mit verschiedenem Mc Farland hergestellt werden. Diese entsprachen bestimmten in 4.7.1 ermittelten Keimzahlen.

Folgende Trübungen kamen zur Anwendung: McF 0,1; McF 0,5; McF 1; McF 2; McF 3; McF 4; McF 5. Mit diesen Bakteriensuspensionen wurden die Spalten 1 bis 7 einer Mikrotiterplatte befüllt (siehe Tab.2). Die Spalte 8 diente mit einer 0,9% NaCL-Lösung als Leerwert (Blank).

Tabelle 2: Schema der Mikrotiterplatte zur Bestimmung der Standardkurven.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	McF0,1	McF0,5	McF1	McF2	McF3	McF4	McF5	Blank				
B	McF0,1	McF0,5	McF1	McF2	McF3	McF4	McF5	Blank				
C	McF0,1	McF0,5	McF1	McF2	McF3	McF4	McF5	Blank				
D	McF0,1	McF0,5	McF1	McF2	McF3	McF4	McF5	Blank				
E	McF0,1	McF0,5	McF1	McF2	McF3	McF4	McF5	Blank				
F	McF0,1	McF0,5	McF1	McF2	McF3	McF4	McF5	Blank				
G	McF0,1	McF0,5	McF1	McF2	McF3	McF4	McF5	Blank				
H	McF0,1	McF0,5	McF1	McF2	McF3	McF4	McF5	Blank				

Die Platte wurde im Nephelometer vermessen. Mit Hilfe der Software des Nephelometers (NEPHELOstar Galaxy Version 4.30-0) konnte ein Diagramm mit linearer Funktion erstellt werden. Hierbei wurden aus Zellen mit gleichem Inhalt Mittelwerte gebildet und anschließend der gemittelte Blank abgezogen. Die Funktion lautete: $y = mx + n$, hierbei sind: x-Keimzahl; y-Nephelometer-Wert. Die Werte m und n wurden vom Nephelometer berechnet. Daraus lies sich dann für jeden Nephelometer-Wert eine Keimzahl errechnen.

4.7.3 Wachstumskurven ohne Extrakte

Vor den eigentlichen Messreihen wurde jeder Bakterienstamm einmalig ohne Extrakte im Nephelometer vermessen und dabei unterschiedliche Ausgangskeimzahlen verwendet, mit dem Ziel, die für die späteren Messungen geeignete Keimzahl zu finden.

Ähnlich wie bei der Ermittlung der Standardkurven erfolgte am Densimat die Herstellung verschiedener Bakteriensuspensionen mit folgenden Mc Farland: McF 4; McF 2; McF 1; McF 0,2. Von der Bakteriensuspension mit McF 0,2 wurden weiterhin Verdünnungen hergestellt: 1:10; 1:100; 1:1000; 1:10000; 1:100000 indem jeweils 0,1 mL der jeweils höheren Konzentration entnommen und mit 0,9 mL Kochsalzlösung verdünnt wurde.

Die Befüllung einer Mikrotiterplatte mit den entsprechenden Bakteriensuspensionen erfolgte durch Pipettierung von 100 μ L der entsprechenden Suspension und 100 μ L Glucose-Bouillon als Nährlösung in jedes Well (siehe Tab. 2). Dementsprechend halbierte sich die Bakterienkonzentration. Zum Beispiel entsprach dann eine Konzentration mit einem eingestellten Mc Farland 1, auf der Platte nur noch Mc Farland 0,5. In den Reihen E bis H wurden 100 μ L isotonische Kochsalzlösung mit 100 μ L Glucose-Bouillon gemischt und die Messwerte dieser Blanks später von den Trübungswerten abgezogen.

In Spalte 1 wurden Mc Farland-Standards, bestehend aus BaSO₄-Lösung, und der passende Blank Aqua dest. pipettiert. Dies diente der Kontrolle der Messung.

Tabelle 3: Schema der Mikrotiterplatte, die zur Bestimmung von Wachstumskurven ohne Extrakte verwendet wurde. In Spalte 1 befinden sich Mc Farland-Standards und Aqua dest. als Blank. Die anderen Spalten enthalten Bakteriensuspension und entsprechende Blanks.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Aqua dest.	1:100000	1:10000	1:1000	1:100	1:10	McF0,1	McF0,5	McF1	McF2		
B	McF0,5	1:100000	1:10000	1:1000	1:100	1:10	McF0,1	McF0,5	McF1	McF2		
C	McF1	1:100000	1:10000	1:1000	1:100	1:10	McF0,1	McF0,5	McF1	McF2		
D	McF2	1:100000	1:10000	1:1000	1:100	1:10	McF0,1	McF0,5	McF1	McF2		
E	McF3	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank		
F	McF4	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank		
G	McF5	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank		
H	Aqua dest	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank	Blank		

Die Messungen erfolgten über eine Zeitdauer von 20 h. Die Einstellungen am Nephelometer wurden wie bei den späteren Messung (siehe 2.7.4) vorgenommen. Aus den erhaltenen Kurven konnten die Ausgangskeimzahlen für die späteren Messreihen bestimmt werden.

4.8 Erstellen der Wachstumskurven mit Extrakten am Nephelometer

4.8.1 Herstellung der Bakteriensuspension und Einstellen der Ausgangskeimzahl

Zuerst wurde am Densimat eine Bakteriensuspension mit einem Mc Farland 0,2 eingestellt. Dies entsprach einer Keimzahl von 4×10^7 KBE/mL für *Escherichia coli* und 6×10^7 KBE/mL für *Staphylococcus aureus*.

Für die Verdünnung 1:100 wurde anschließend 0,1 mL Bakteriensuspension entnommen und in einem Gefäß mit 9,9 mL Glucose-Bouillon gegeben. Damit war für *Escherichia coli* eine Keimzahl von 4×10^5 KBE/mL, für *Staphylococcus aureus* von 6×10^5 KBE/mL, vorgegeben.

Die endgültige Inokulumgröße halbierte sich beim Befüllen der Mikrotiterplatte, da 100 µL Bakteriensuspension und 100 µL Extraktlösung pro Well verwendet wurden. Somit betrug die Ausgangskeimzahl bei den Messreihen 2×10^5 KBE/mL für *Escherichia coli* und 3×10^5 KBE/mL für *Staphylococcus aureus*.

4.8.2 Herstellung unterschiedlicher Konzentrationen

Ziel der Untersuchung war es, die Hemmung des Wachstums von *Escherichia coli* ATCC 35218 und *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 in Abhängigkeit von Extrakterstellung und deren unterschiedlichen Konzentrationen mit Hilfe eines Nephelometers darzustellen.

Daraus ergab sich die Notwendigkeit, unterschiedliche Verdünnungen zu wählen, welche bei allen Textilproben eine mögliche Hemmung und eine Abstufung in der Hemmung aufzeigten. In den zahlreichen Vorversuchen erwies sich für die Messung eine Ausgangskonzentration von 200 mg/mL als günstig. Schrittweise wurden vor jeder Messung durch eine Verdünnungsreihe unterschiedliche Konzentrationen (150 mg/mL; 100 mg/mL; 75 mg/mL; 50 mg/mL; 25 mg/mL; 12,5 mg/mL; 10 mg/mL; 5 mg/mL; 2,5 mg/mL; 1 mg/mL; 0,5 mg/mL) mittels Glucose-Bouillion hergestellt.

Dazu wurde ein steriles Reagenzglas mit 0,5 mL (150 mg/mL), acht weitere sterile Reagenzgläser mit jeweils 1 mL GB befüllt. In den Gefäßen für die Konzentrationen 10 mg und 1 mg kamen zusätzlich noch 0,5 mL hinzu, so dass hier die Gesamtmenge 1,5 mL betrug.

Anschließend wurde 1 mL einer 200 mg/mL Konzentration in das erste Gefäß, das mit 1 mL GB gefüllt war, gegeben. Dadurch entstand eine um 50% verringerte 100 mg/mL Konzentration. Die Herstellungsangaben aller verwendeten Konzentrationen ist in Tab. 4 dargestellt.

Tabelle 4: Verdünnungsschema zur Herstellung von verschiedenen Extraktkonzentrationen.

Gewünschte Konz. in mg/mL	Herstellung
100	1mL GB + 1mL Extrakt 200mg
75	1mL GB + 1mL Extrakt 150mg
50	1mL GB + 1mL Extrakt 100mg
37,5	1mL GB + 1mL Extrakt 75mg
25	1mL GB + 1mL Extrakt 50mg
10	1,5mL GB + 1mL Extrakt 25mg
5	1mL GB + 1mL Extrakt 10mg
2,5	1mL GB + 1mL Extrakt 5mg
1	1,5mL GB + 1mL Extrakt 2,5mg
0,5	1mL GB + 1mL Extrakt 1mg

4.8.3 Layout der Mikrotiterplatten

Die Wells A bis D wurden mit den hergestellten Bakteriensuspensionen befüllt und in jedes Well 100 µL der entsprechenden Suspension als Nährlösung gegeben. Dementsprechend halbierte sich die Bakterienkonzentration. Zum Beispiel entsprach dann eine Konzentration mit einem eingestellten Mc Farland 2 auf der Mikrotiterplatte nur noch Mc Farland 1. Die Wells E bis H hingegen enthielten keine Bakteriensuspension. Die Messwerte dieser Blanks mussten später von den Trübungswerten subtrahiert werden.

In die Wells der Spalte 1 wurde kein Extrakt hinzugegeben. Sie dienten zur Beurteilung der Wachstumskurven ohne den Einfluss der Extrakte. In die Spalten 2 bis 12 wurde pro Well zu den genannten 100 µL Bakteriensuspension jeweils 100 µL Extrakte unterschiedlicher Konzentration gegeben (Extraktkonzentration siehe Tabelle 4).

Tabelle 5: Schema der Mikrotiterplatte, es werden die endgültigen Konzentrationen (in mg/mL) der Extrakte angegeben. Wells, die Bakteriensuspension enthalten, sind fett umrandet (GB = Glucosebouillon; B = Kontrollblank, 100 µL Glucosebouillon + 100 µL Extrakte).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	GB	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
B	GB	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
C	GB	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
D	GB	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
E	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
F	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
G	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B
H	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B	B

Die Bestimmung der pH-Werte der Wells A2 bis A12 erfolgte vor den Messungen, wozu zwei Mikrotiterplatten in der gleichen Weise wie für die Messreihen befüllt wurden. Dazu kam Universalindikatorpapier zur Anwendung (pH-Wert 0-14). Die benutzten Platten konnten anschließend entsorgt werden. Nach den Messungen erfolgte ebenfalls die Bestimmung des pH-Wertes indem nach Entfernung der Abdeckfolie Universalindikatorpapier in die Wells A2 bis A 12 der Mikrotiterplatte eingebracht wurde.

4.8.4 Messung im Nephelometer

Die Mikrotiterplatten wurden mit einer Abdeckfolie (Breathe-Easy) versehen und anschließend in das Mikroplattenephelometer (NEPHELOstar Galaxy) gegeben.

Zu Beginn der Messung erfolgte zuerst die Bestimmung des Ausgangswertes für die soeben pipettierte Mikrotiterplatte. Es wurde der Modus Ausgangszellzahl verwendet, das heißt für jedes Well eine Messung.

Die Einstellung des Nephelometers für die Messung der Wachstumskurve erfolgte nach einem Modus, in dem das Gerät stündlich die Trübung der einzelnen Wells misst. Hierbei ergaben sich folgende wesentliche Einstellungen (siehe Tab. 6).

Tabelle 6: Einstellung des Nephelometers (NEPHELOstar Galaxy) für die Messreihen.

Einstellung	Erklärung
Number of cycles: 20	Es wurden 20 Messzyklen eingestellt
Shaking: Vor jeder Messung	Um über die gesamte Messreihe eine homogene Suspension zu erhalten musste die Platte vor jeder Messung geschüttelt werden.
Shaking time: 3600 s	3600 s, also 1 h wurde die Platte vor jedem Zyklus geschüttelt.
Shaking width: 5 mm	Umfang der Bewegung der Mikrotiterplatte
Laser beam focus: 2,5 mm	Brennweite des Lasers
Measurment-intervall time: 0,1 s	Zeit die für eine Messung eines Wells benötigt wurde
Gain: 122	Verstärkung
Reading: horizontal	Ableserichtung der Wells während der Messung

4.8.5 Überimpfen der Bakteriensuspension auf Agarplatten

Nach Abschluss der Messungen wurde der Inhalt der Wells, in denen kein Bakterienwachstum zu erkennen war auf Blutagar gebracht, indem pro Konzentration aus einem entsprechenden Well 200 µL entnommen und überimpft wurde.

Bei der Entnahme der Bakteriensuspension wurde die Pipette mehrfach aufgezogen und wieder entleert, mit dem Ziel, den Inhalt des Wells gut zu durchmischen, um ihn anschließend mit einer sterilen Öse auf der Agarplatte ausstreichen zu können.

Nach einer Lagerung von 24 Stunden im Brutschrank bei einer Temperatur von 37 °C konnte am nächsten Tag die Kontrolle eines möglichen Bakterienwachstums erfolgen. Dabei wurde ausschließlich die Entstehung von Bakterienkolonien gewertet, eine Auszählung derselben erfolgte nicht.

4.9 Mathematische Auswertung der Messwerte

Die erhaltenen Ergebnisse wurden mathematisch und statistisch wie folgt ausgewertet:

Die Messungen ergaben relative Nephelometereinheiten, denen ein Blank zugeordnet und von diesem subtrahiert wurde (z.B. A1-E1, B1-F1 usw.).

Da jede Messreihe vier Mal durchgeführt wurde ergaben sich insgesamt 16 Messwerte, deren Mittelwert die entsprechenden Wachstumskurven darstellt. Die Auswertung erfolgte mit Microsoft Excel. Für die Zeitpunkte 3-, 6-, 12- und 20 h wurde die Standardabweichung bestimmt.

Mit Hilfe von SPSS errechnete sich für oben genannte Zeitpunkte der Mann-Witney-U-Test. Hierbei wurde die Signifikanz zur Referenzkontrolle geprüft, die Signifikanzwerte $p \leq 0,05$ werden im Folgenden als signifikant bezeichnet.

5 Ergebnisse

5.1 Wachstum von *Escherichia coli* unter dem Einfluss der Textilextrakte

5.1.1 Wachstum von *Escherichia coli* unter dem Einfluss der Extrakte F1

Die Untersuchungen zur Bestimmung des Einflusses der Extrakte, der SeaCell® Active-Faser F1 (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen) auf das Wachstum von *Escherichia coli*, mittels der Nephelometrie, zeigen bei Konz. zwischen 5 mg/mL bis 100 mg/mL eine komplette Hemmung. Wie aus dem Diagramm der Abb. 3 ersichtlich wird, ist über den gemessenen Zeitraum von 20 h kein Wachstum nachweisbar. Die hemmenden Verdünnungen unterscheiden sich bereits nach 3 h signifikant gegenüber dem Kontrollwachstum (*Escherichia coli* ohne Zugabe der Extrakte), was aus der Boxplottdarstellung in Abb. 4 ersichtlich wird. Zur Beweisführung wird ein Mann–Witney–U–Test durchgeführt, welcher zu allen ausgewählten Messzeiten eine signifikante Abweichung zum Standardwachstum ergibt, was in Tab. 7 dargestellt ist.

Bei dem Extrakt 2,5 mg/mL liegt eine unvollständige Hemmung vor, da ein Wachstum erst nach 4 h einsetzt, nach 6 h bereits 12% beträgt und nach 10 h sich dieses nicht mehr signifikant vom Kontrollwachstum unterscheidet. Bei einer Verdünnung von 1 mg/mL ist die hemmende Wirkung sehr gering, da nach 3 h ein Wachstum von 22% nachweisbar ist und dieses nach 5 h keine Signifikanz zum Standardwachstum aufweist.

Keine Hemmung zeigen die Messreihen der niedrigsten Konzentrationen 0,5 mg/mL und 0,25 mg/mL, was die Abb. 3 und 4 verdeutlichen. Nach einer Messzeit von 20 h ist das Konzentrat 0,25 mg/mL identisch mit dem Kontrollwachstum des Keims, bei den Verdünnungen 0,5 mg/mL; 1 mg/mL und 2,5 mg/mL ist ein leichter Anstieg des Wachstums zu beobachten.

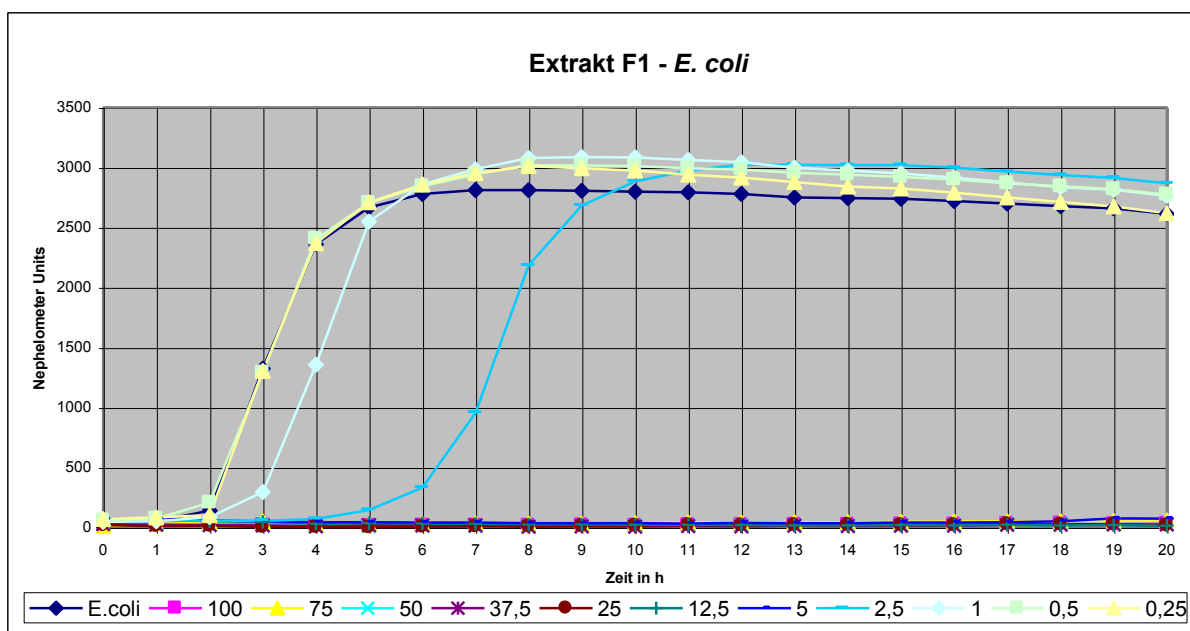


Abbildung 3: F1-*E. coli*; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

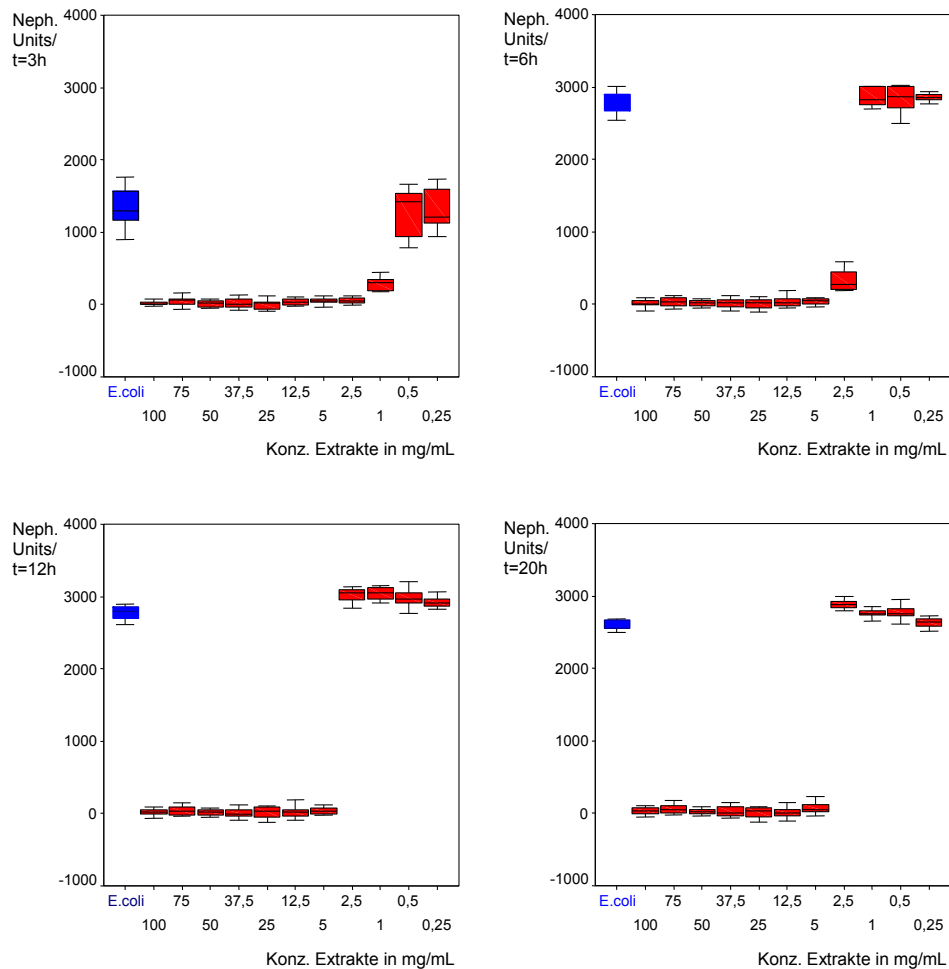


Abbildung 4: F1-*E. coli*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 7: *Escherichia coli* mit F1, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *E. coli*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg/mL	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,932	0,755
	Anteil in %	1	4	1	1	0	4	4	4	22	98	99
6h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,114	0,242	0,101
		0	1	0	1	0	1	1	12	103	102	103
12h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001
		1	1	0	0	1	1	1	107	110	107	105
20h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,671
		1	2	1	1	1	0	3	110	106	106	100

5.1.2 Wachstum von *Escherichia coli* unter dem Einfluss der Extrakte F2

Die in-vitro Testungen mit dem Ziel, den Einfluss der Extrakte, der SeaCell® Faser F2 (Lyocell/ Alge) auf das Wachstum von *Escherichia coli* mit Hilfe eines Nephelometers zu bestimmen, haben über den zeitlichen Verlauf von 20 h keinerlei Anzeichen einer Hemmung erbringen können, was das Diagramm in Abb. 5 graphisch verdeutlichen soll.

Aus der Tab. 8 ist zu entnehmen, dass nach 6 h Stunden mit Ausnahme der niedrigsten Konzentration (0,25 mg/mL; 109%), bei allen anderen ein signifikanter Unterschied im Vergleich zu dem Kontrollwachstum (*Escherichia coli* ohne Extrakte) festgestellt werden kann. Bei diesen Verdünnungen stellt sich nach dieser Messdauer mit einem Maximalwert von 115% bei 25 mg/mL ein Wachstumsplus ein.

Nach 12 h unterscheiden sich die Konzentrate größer gleich 2,5 mg/mL signifikant zum Standardwachstum. Dabei scheint das Extrakt 75 mg/mL mit einem Wachstum von 115% die günstigsten Vorraussetzung für das Wachstum der Bakterium zu bieten.

Am Ende der Messung, nach 20 h, unterscheiden sich die Konzentrationen größer gleich 5 mg/mL nicht signifikant im Vergleich zum Kontrollwachstum des Keims. Zu diesem Zeitpunkt fällt, mit einem Maximalwert von 111% bei 75 mg/mL, die Steigerung des Wachstums wie bei allen hergestellten Extrakten der SeaCell® Faser F2 etwas geringer aus.

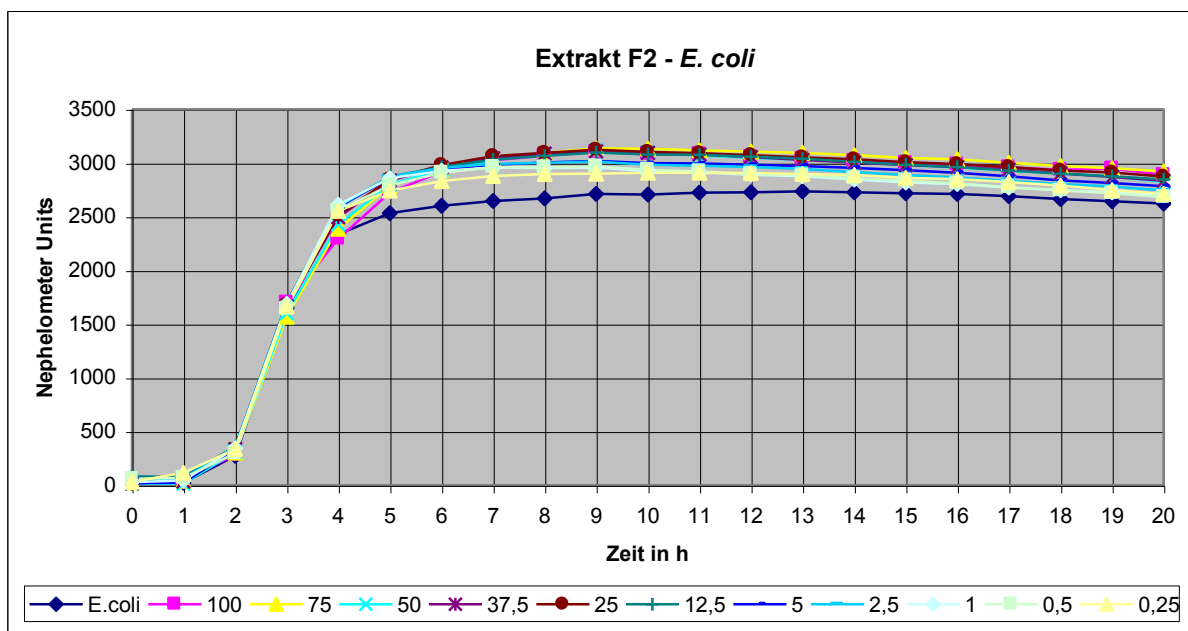


Abbildung 5: F2-E. coli; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

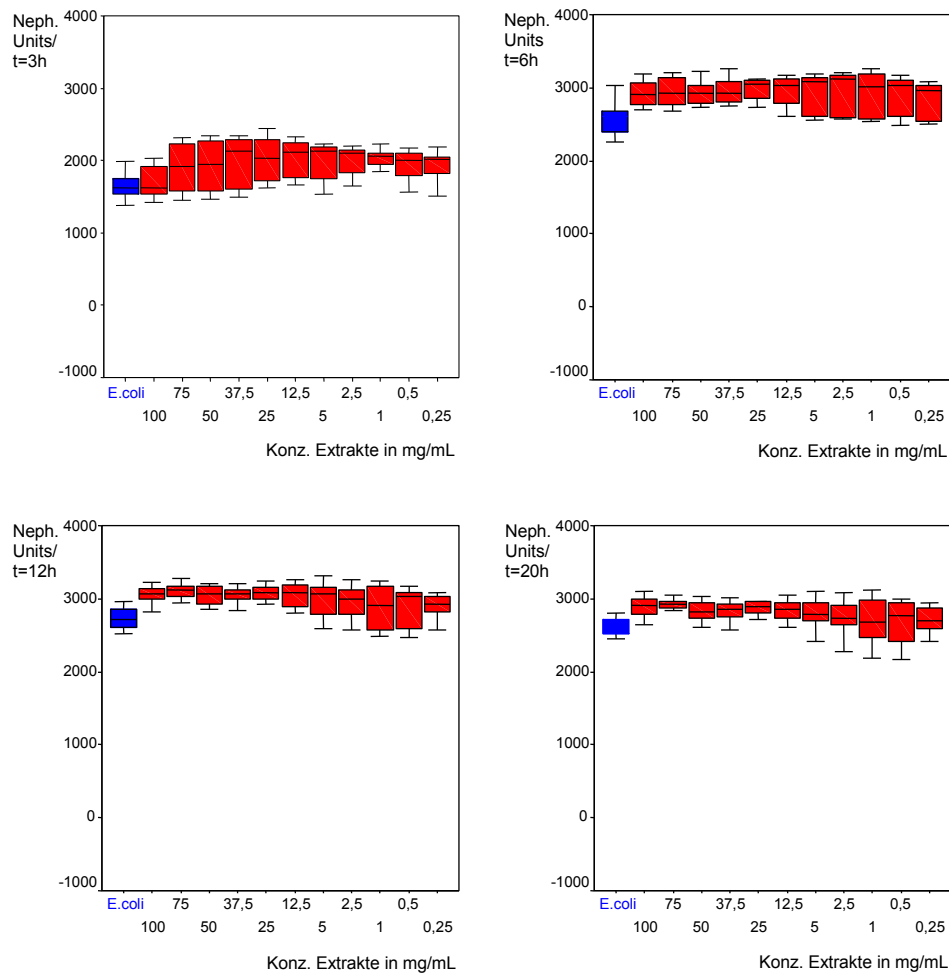


Abbildung 6: F2-*E. coli*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 8: *Escherichia coli* mit F2, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *E. coli*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,755	0,347	0,319	0,198	0,219	0,219	0,178	0,198	0,178	0,266	0,219
	Anteil in %	103	95	97	101	102	103	102	102	102	100	101
6h		0,000	0,001	0,001	0,000	0,000	0,000	0,010	0,008	0,024	0,014	0,068
		112	113	113	114	115	114	113	114	113	112	109
12h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,010	0,010	0,242	0,089	0,077
		113	115	113	113	114	113	110	109	107	107	107
20h		0,000	0,000	0,001	0,001	0,000	0,001	0,039	0,089	0,478	0,242	0,219
		110	111	108	108	110	108	106	105	103	102	103

5.1.3 Wachstum von *Escherichia coli* unter dem Einfluss der Extrakte F3

Die Untersuchungen mit Hilfe eines Mikroplatten-nephelometers, den Einfluss von Lyocell Faserextrakten F3 auf das Wachstum von *Escherichia coli* zu bestimmen, zeigen über den gemessenen Zeitraum von 20 h keinerlei Anzeichen einer Hemmung.

Im Gegenteil, das Diagramm in Abb. 7 sowie die Boxplots in Abb. 8 verdeutlichen, dass bei dieser Messreihe sich bei allen Konzentrationen ein positiver Effekt auf das Wachstum der Bakterien einstellt.

So unterscheiden sich nach 6 h, mit Ausnahme der Konzentrationen 100 mg/mL (108%) und der 0,25 mg/mL (102%), alle weiteren signifikant gegenüber dem Kontrollwachstum (*Escherichia coli* ohne Extrakte) des Keims.

Wie aus den relativen Anteilen der Tab. 9 entnommen werden kann, ist bei allen hergestellten Extrakten der Lyocell Faser zu den ausgewählten Zeitpunkten nach 6-, 12- und 20 h eine deutliche Zunahme des Wachstums erkennbar. Dabei können nach einem Zeitraum von 12 h sowie 20 h Maximalwerte bei einer Verdünnung von 12,5 mg/mL mit jeweils 112% errechnet werden.

In dem dargestellten Boxplot der Abb. 8 ist nach drei Stunden eine deutlich höhere Streuung im Vergleich zu den späteren Zeitpunkten ersichtlich. Es ist vorstellbar, dass in einigen der durchgeführten Messreihen zu diesem frühen Zeitpunkt der Untersuchung ein etwas stärkeres Wachstum, in wenigen anderen hingegen ein verzögerter Wachstumsbeginn registriert worden ist.

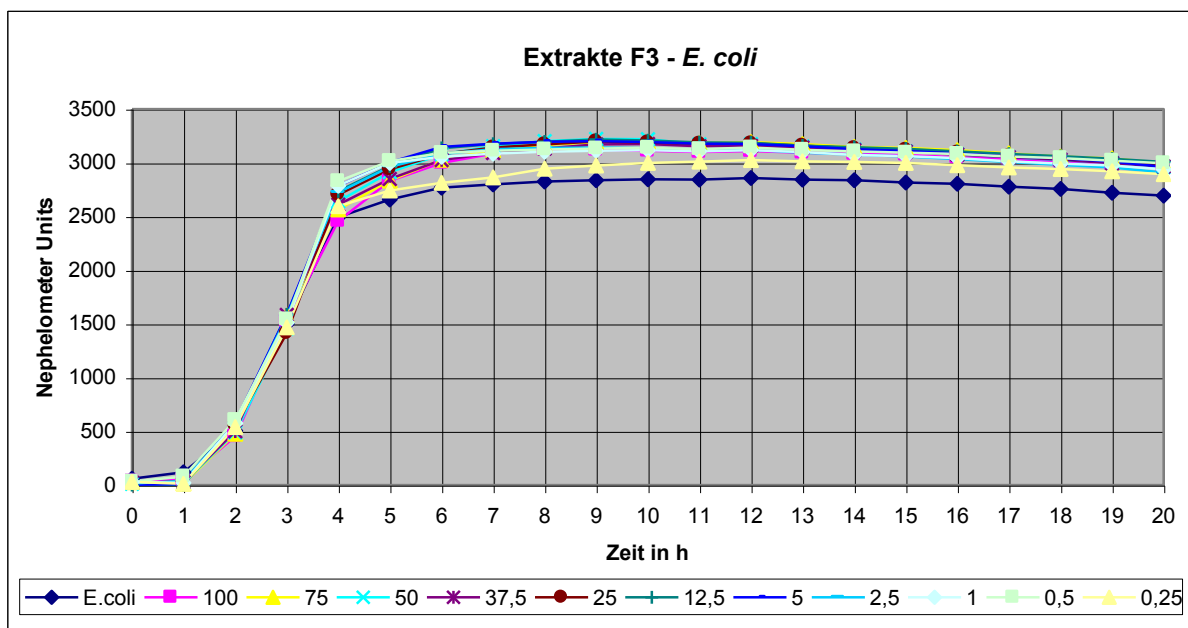


Abbildung 7: F3-*E. coli*; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

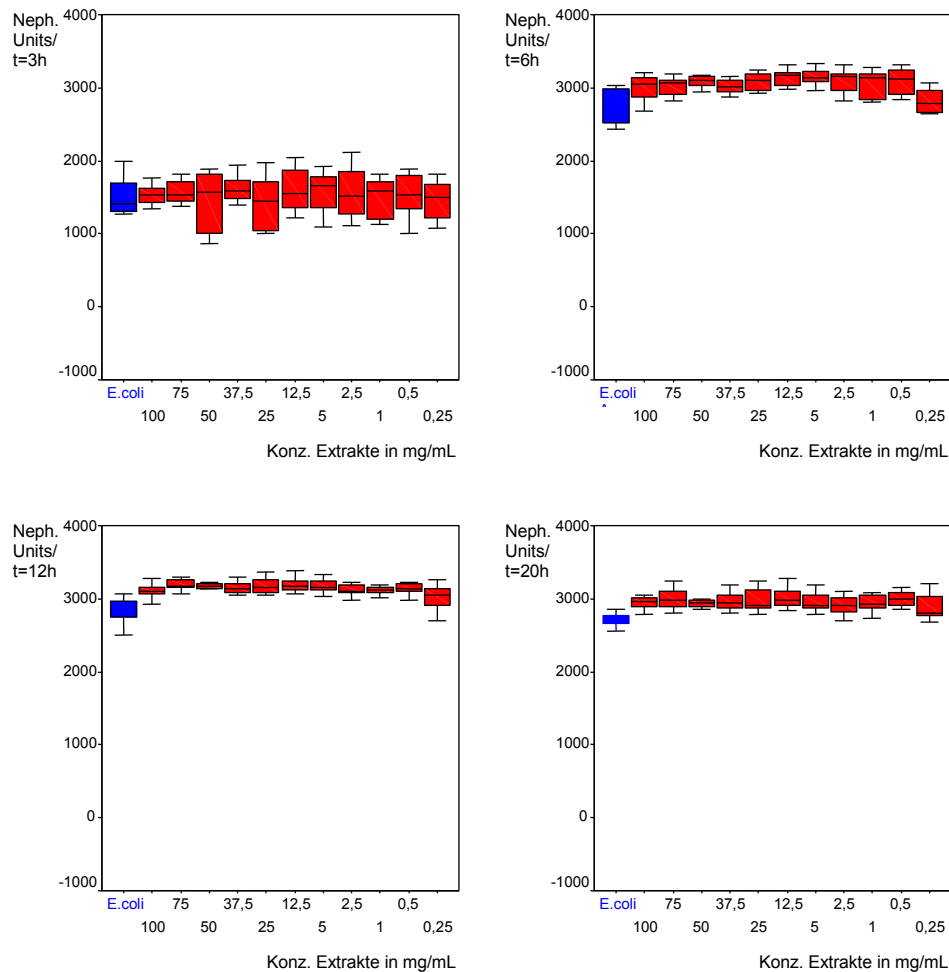


Abbildung 8: F3-*E. coli*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 9: *Escherichia coli* mit F3, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *E. coli*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,347	0,198	0,932	0,219	0,713	0,551	0,514	0,713	0,977	0,630	0,755
	Anteil in %	102	105	97	106	94	106	106	105	101	103	98
6h		0,005	0,006	0,000	0,010	0,001	0,000	0,000	0,002	0,010	0,006	0,671
		108	109	111	109	111	113	114	111	110	112	102
12h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,028
		109	112	111	111	111	112	111	109	109	110	106
20h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,012
		110	111	110	110	111	112	110	108	109	111	107

5.1.4 Wachstum von *Escherichia coli* unter dem Einfluss der Extrakte G5

In den Untersuchungsreihen zur Bestimmung des Einflusses der Extrakte G5 (bestehend aus SeaCell® Active 10%, SeaCell® 20% und Lyocell 70%) auf das Wachstum von *Escherichia coli* kann über den Zeitraum von 20 h eine unvollständige Hemmung der 100 mg/mL Verdünnung beobachtet werden.

Wie aus dem Diagramm der Abb. 9 zu entnehmen ist, stellte sich bei der höchsten Konzentration ein Wachstum nach 6 h ein, welches nach 12 h eine Hemmung um 7% aufweist und sich nach 13 h nicht mehr signifikant gegenüber dem Kontrollwachstum (*Escherichia coli* ohne Extrakte) unterscheidet.

Wie die Tab. 10 verdeutlicht, ist bei den Konzentrationen 75 mg/mL und 50 mg/mL die erzielte Hemmung nach 6 h mit 78% beziehungsweise 89% sehr gering. Nach 12 h unterscheiden sich diese Verdünnungen nicht mehr signifikant gegenüber dem Standardwachstum, was der durchgeführte Mann–Witney–U–Test beweist.

Nach der gemessenen Zeitspanne von 20 h ist bei allen Konzentrationen mit Werten zwischen 112% bis 116%, ein auf das Wachstum der Bakterien förderlicher Effekt zu beobachten. Den Maximalwert erreicht dabei der Extrakt 1 mg/mL.

Auffallend sind die hohen Streuungen der gemessenen Werte, welche graphisch im Boxplott der Abb. 10 nach 6 h dargestellt sind. Es ist denkbar, dass die Stärke des Wachstums zu diesem Zeitpunkt in einigen Messreihen unterschiedlich stark variiert.

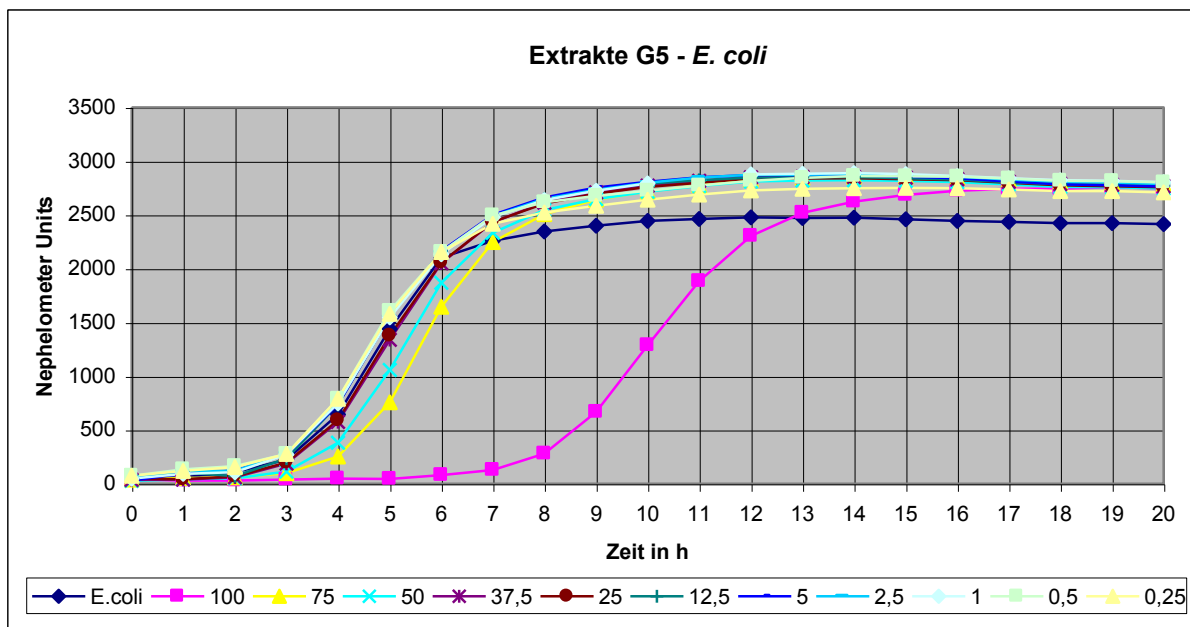


Abbildung 9: G5-*E. coli*; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

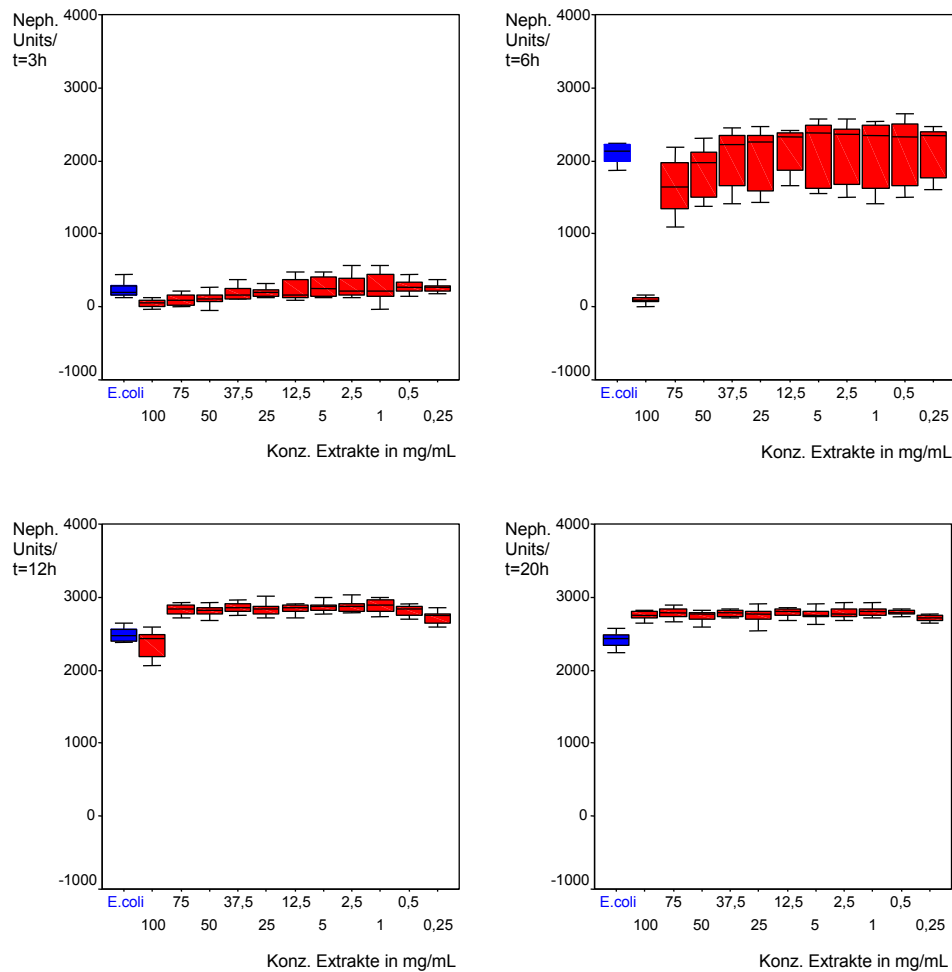


Abbildung 10: G5-*E. coli*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 10: *Escherichia coli* mit G5, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *E. coli*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,000	0,003	0,004	0,242	0,630	0,671	0,410	0,443	0,713	0,128	0,060
	Anteil in %	17	43	51	84	88	105	122	126	122	123	124
6h		0,000	0,001	0,089	0,443	0,219	0,160	0,178	0,178	0,168	0,178	0,178
		4	78	89	98	98	103	103	102	101	103	103
12h		0,198	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		93	114	114	115	115	115	116	116	116	114	110
20h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		114	115	114	115	114	115	114	115	116	116	112

5.1.5 Wachstum von *Escherichia coli* unter dem Einfluss der Extrakte V1

Die in-vitro Untersuchungen mit dem Ziel, den Einfluss der Extrakte des wasserstrahlverfestigten Vlieses V1 (bestehend aus SeaCell® Active 20% und Lyocell 80%) auf das Wachstum von *Escherichia coli* mit Hilfe eines Mikroplatten-nephelometers zu bestimmen, ergeben über den zeitlichen Verlauf von 20 h eine unvollständige Hemmung.

Wie aus dem Diagramm der Abb. 11 zu sehen ist, tritt bei der mit 100 mg/mL höchsten Verdünnung eine geringe Wachstumshemmung auf. In Prozenten ausgedrückt, bedeutet dies eine Hemmung um 71% nach 6 h. Allerdings ist bereits nach 12 h ein Wachstum von 109%, verglichen mit den Keimzahlen des Kontrollwachstums (*Escherichia coli* ohne Extrakte) nachweisbar.

Bei allen anderen hergestellten Konzentrationen der Extrakte V1 sind keine Anzeichen einer Hemmung ersichtlich. Nach 12 h kann überall ein positiver Effekt auf das Wachstums beobachtet werden, was die Boxplots der Abb. 12 sowie die Tab. 11 zum Ausdruck bringen. Dabei werden Maximalwerte bei einer Verdünnung von 5 mg/mL mit 120% nach 12 h und mit 117% nach 20 h erreicht.

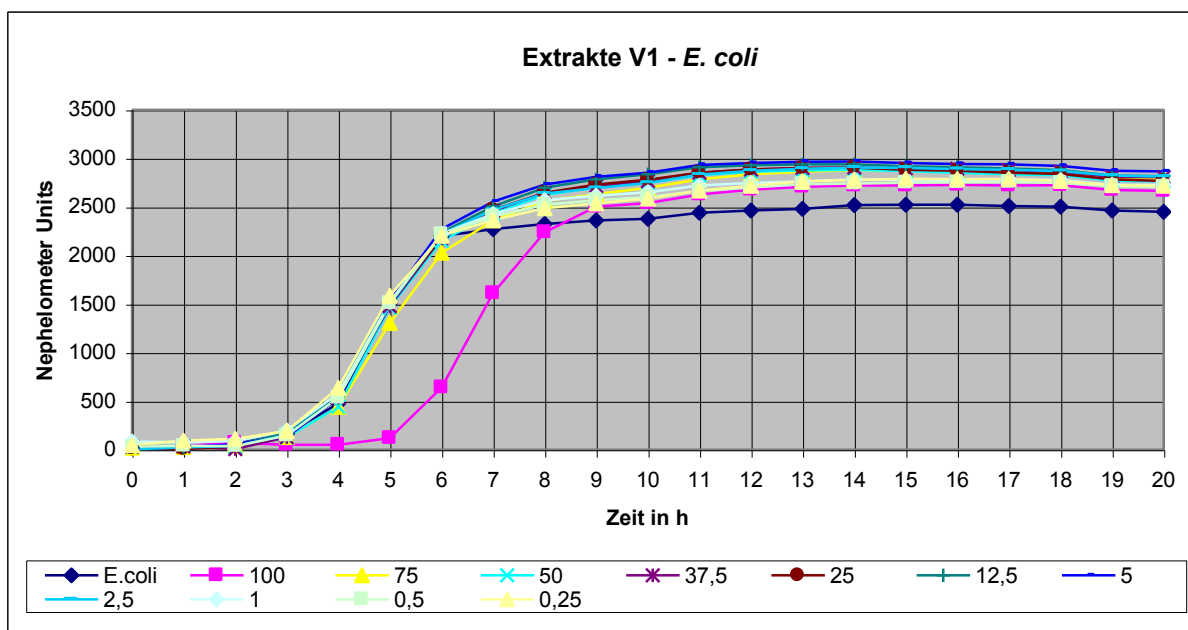


Abbildung 11: V1-*E. coli*; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

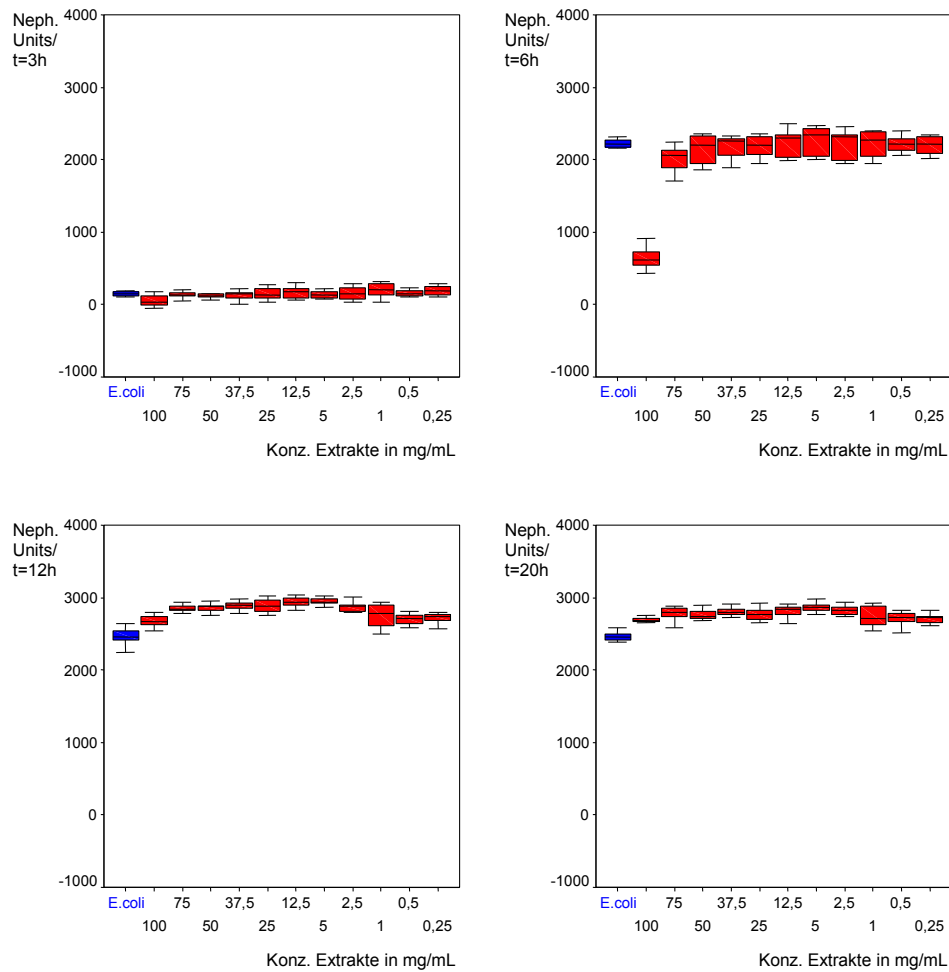


Abbildung 12: V1-*E. coli*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 11: *Escherichia coli* mit V1, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *E. coli*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,000	0,000	0,052	0,319	0,977	0,671	0,551	0,590	0,178	0,932	0,143
	Anteil in %	31	82	78	81	95	106	85	97	125	92	122
6h		0,000	0,000	0,932	0,630	0,887	0,291	0,143	0,143	0,319	0,932	0,843
		29	92	98	99	100	102	103	101	101	101	100
12h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		109	115	116	117	117	119	120	117	112	110	110
20h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		109	113	113	114	113	115	117	115	111	110	111

5.1.6 Wachstum von *Escherichia coli* unter dem Einfluss der Extrakte V2

Bei den Untersuchungen zum Einfluss der Extrakte des wasserstrahlverfestigten Vlieses V2 (bestehend aus SeaCell® Active 100%) auf das Wachstum von *Escherichia coli* wird eine unvollständige Hemmung nachgewiesen.

So ist bei der mit 100 mg/mL höchsten Konzentration ein nach 10 h beginnender und damit deutlich verspäteter Wachstumsbeginn feststellbar. Dieses Wachstum wird nach 12 h um 86% gehemmt und unterscheidet sich nach 17 h nicht mehr signifikant vom Kontrollwachstum (*Escherichia coli* ohne Extrakte), wie im Diagramm der Abb. 13 graphisch dargestellt ist.

Bei dem 75 mg/mL Konzentrat stellt sich ein Wachstum nach 4 h ein, wird nach 6 h um 63% gehemmt und lässt sich nach 9 h gegenüber dem Standardwachstums des Keims nicht mehr differenzieren.

Eine sehr geringe Wachstumsverzögerung kann bei einer Verdünnung von 50 mg/mL beschrieben werden, indem es eine Hemmung nach 3 h um 18% und nach 6 h um 27% gegenüber dem Kontrollwachstum aufweist (siehe Tab. 12).

Ab einer Konzentration von 37,5 mg/mL ist der Nachweis einer Hemmung oder einer Wachstumsverzögerung nicht feststellbar, es kann nach 3 h und 6 h keine Signifikanz durch den Mann–Witney–U–Test berechnet werden.

Nach 12 h ist mit Ausnahme der 100 mg/mL Konzentration, bei allen anderen ein deutliches Plus an Wachstum zu sehen, welches mit 118% bei 5 mg/mL seinen Maximalwert erreicht.

Diese Tendenz ist nach 20 h bei allen hergestellten Verdünnungen nachweisbar, dass Maximum liegt zu diesem Zeitpunkt bei 0,5 mg/mL mit 114%.

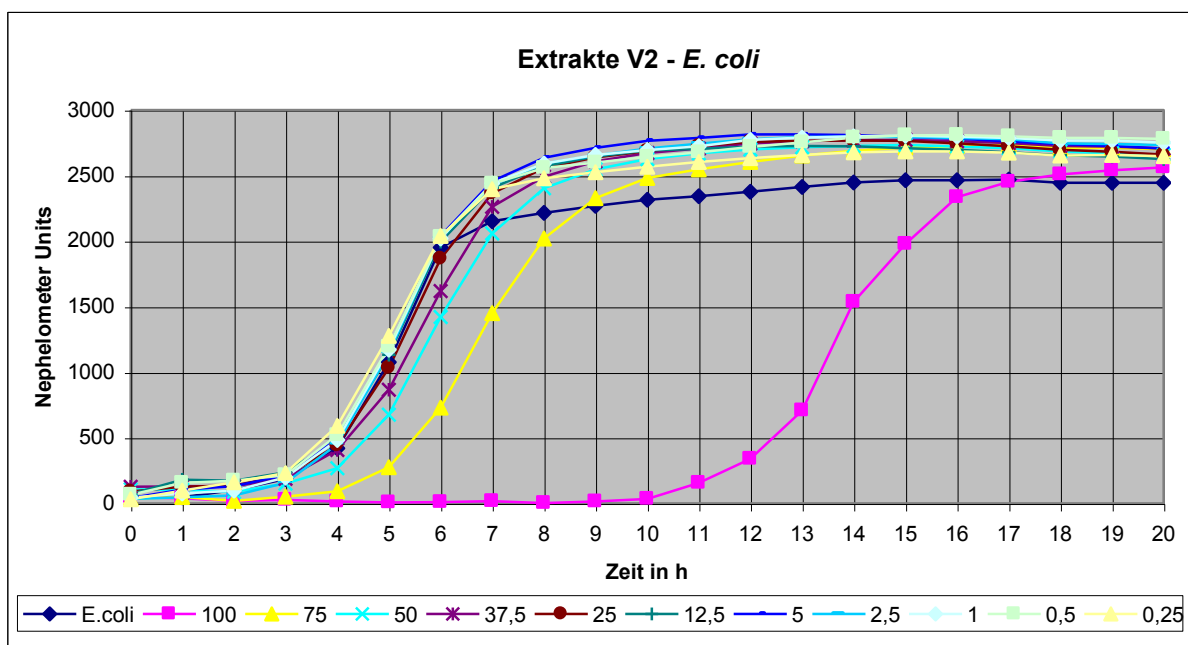


Abbildung 13: V2-*E. coli*; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

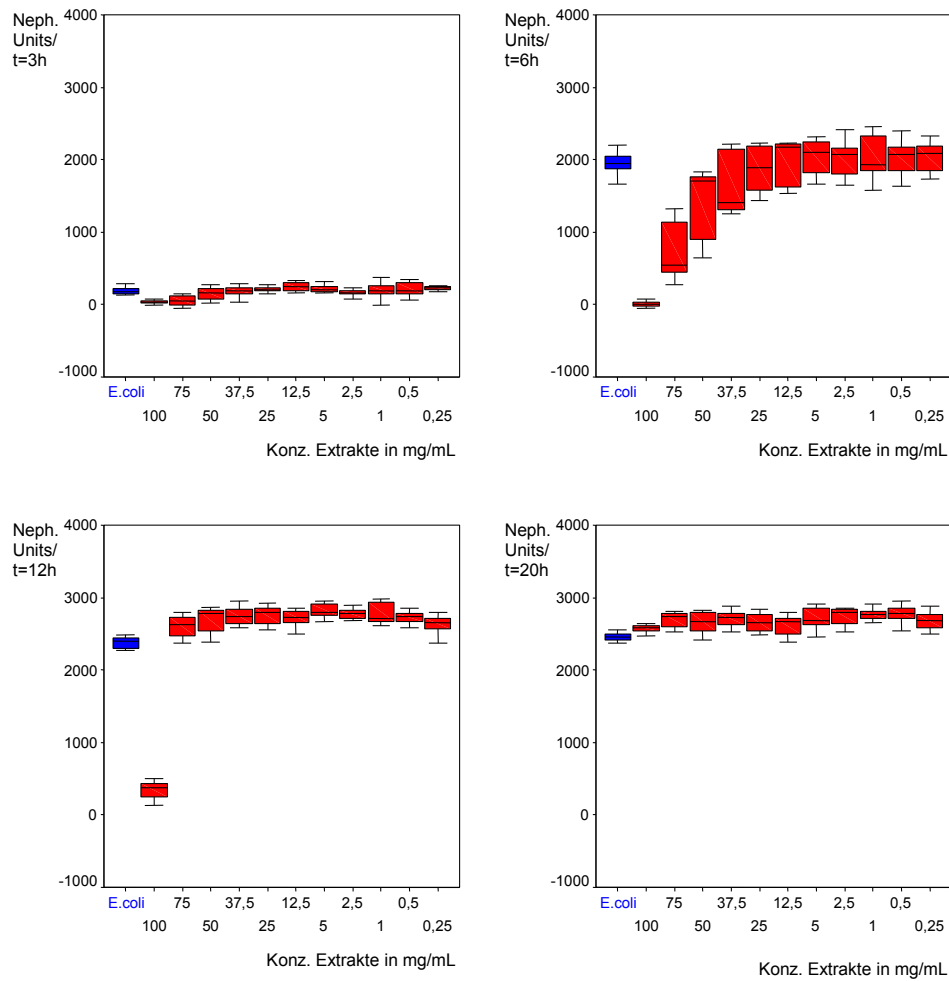


Abbildung 14: V2-*E. coli*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 12: *Escherichia coli* mit V2, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *E. coli*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,000	0,000	0,378	0,671	0,219	0,024	0,143	0,378	0,630	0,478	0,017
	Anteil in %	14	28	82	101	114	128	116	85	107	117	126
6h		0,000	0,000	0,000	0,128	0,590	0,242	0,319	0,378	0,799	0,319	0,378
		0	37	73	83	96	102	104	104	103	104	104
12h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		14	110	114	115	116	115	118	117	117	114	111
20h		0,002	0,000	0,002	0,000	0,000	0,002	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		105	110	109	111	109	107	111	112	112	114	108

5.1.7 Wachstum von *Escherichia coli* unter dem Einfluss der Extrakte V3

Die Untersuchungen zur Bestimmung des Einflusses der Extrakte des wasserstrahlverfestigten Vlieses V3 (bestehend aus 100% Lyocell Fasern) auf das Wachstum von *Escherichia coli* ergeben im gemessenen Zeitraum von 20 h keine Hemmung.

Wie die dargestellten Boxplots der Abb. 16 sowie das Diagramm der Abb. 15 graphisch verdeutlichen, führen die Extrakte zu einem positiven Wachstumseffekt des Keims, verglichen mit dem Standardwachstum (*Escherichia coli* ohne Zugabe der Extrakte). Dabei ergeben die Berechnungen des Mann–Witney–U–Test nach 3 h und 6 h keine Signifikanz aller hergestellten Verdünnungen gegenüber dem Kontrollwachstum.

Zu den Messzeiten 12 h und 20 h kann ein signifikanter Unterschied der Extrakte allerdings nachgewiesen werden, wie aus Tab. 13 zu entnehmen ist. Die höchsten Keimzahlen werden bei einer Konzentration von 5 mg/mL nach 12 h mit 119% und nach 20 h mit 110% gemessen.

Im Gegensatz dazu findet man die geringste Zunahme des Wachstums mit 107% nach gemessenen 12 h bei einer Verdünnung von 100 mg/mL. Zum Abschluss der Messung werden die geringsten Keimzahlen bei dem Extrakt 0,25 mg/mL mit 104% nachgewiesen.

Prinzipiell ist auffällig, dass bei allen hergestellten Konzentrationen der positive Wachstumseffekt im Vergleich zu dem Standardwachstum nach 12 h Maximalwerte annimmt und zum Ende der Messung etwas geringer ausfällt.

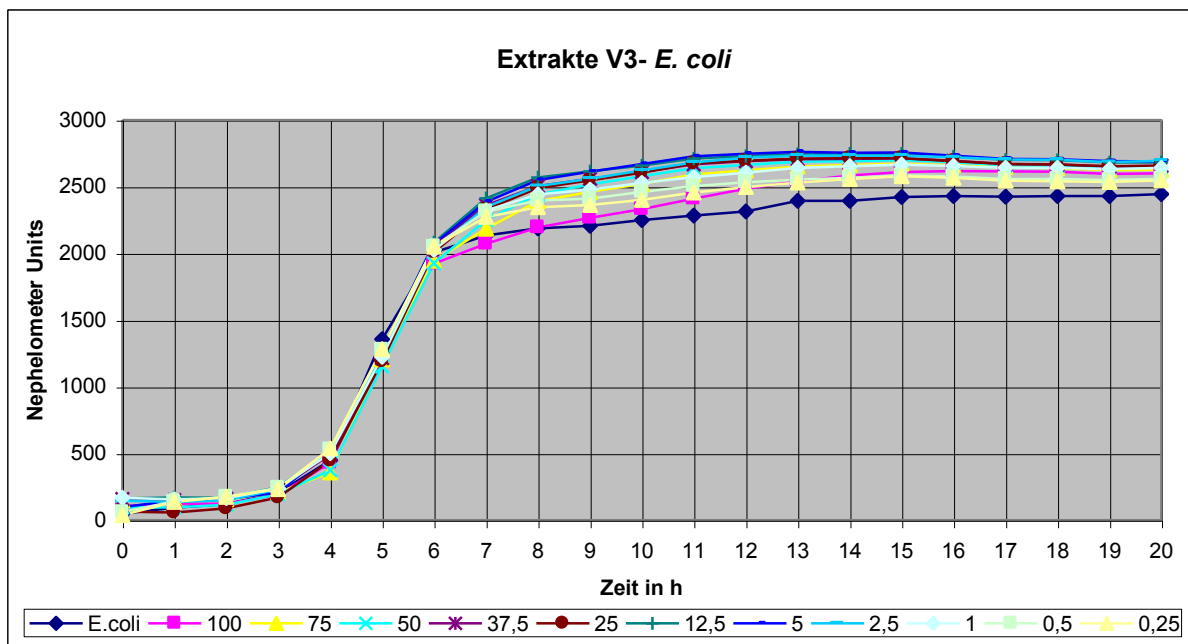


Abbildung 15: V3-E. coli; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

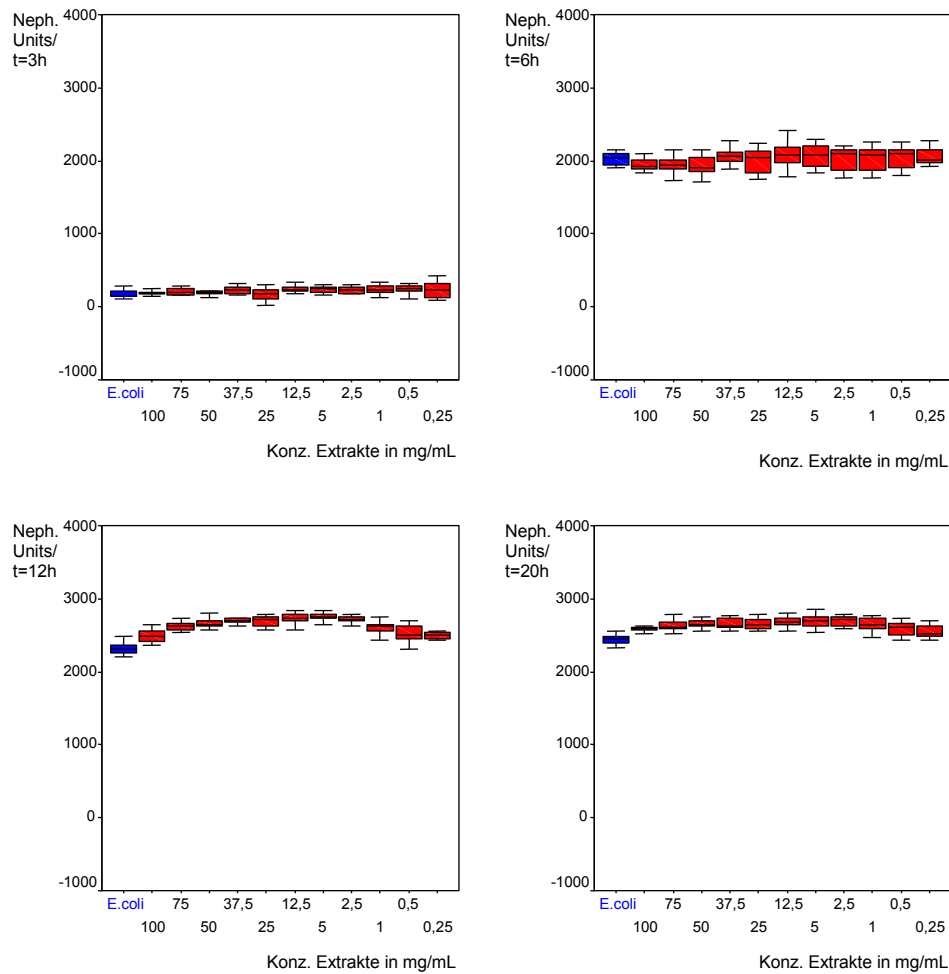


Abbildung 16: V3-*E. coli*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 13: *Escherichia coli* mit V3, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *E. coli*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,671	0,755	0,843	0,219	0,443	0,068	0,178	0,198	0,160	0,089	0,551
	Anteil in %	95	101	96	113	84	122	102	114	117	119	115
6h		0,05	0,101	0,128	0,443	0,843	0,242	0,378	0,514	0,551	0,291	0,590
		96	97	96	103	100	104	103	101	101	102	102
12h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		107	113	115	116	116	118	119	117	113	109	108
20h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,005	0,005
		106	107	109	109	109	110	110	110	108	105	104

5.1.8 Wachstum von *Escherichia coli* unter dem Einfluss der Extrakte W2

Die experimentellen Untersuchungen, den Einfluss der Gewebeextrakte W2 (bestehend aus Lyocell 85%, SeaCell® 10% und SeaCell® Active 5%) auf das Wachstum von *Escherichia coli* mit Hilfe eines Mikroplattennephelometers zu bestimmen, ergeben über den zeitlichen Verlauf von 20 h eine unvollständige Hemmung.

Wie das Diagramm der Abb. 17 zeigt, kann bei der mit 100 mg/mL höchsten Konzentration ein nach 7 h verspäteter Wachstumsstart nachgewiesen werden. Dieses verhält sich allerdings bereits nach 12 h mit einem Wachstum von 98% nicht mehr signifikant im Vergleich zum Kontrollwachstum (*Escherichia coli* ohne Extrakte).

Im Konzentrationsbereich von 75 mg/mL bis 0,25 mg/mL kann kein hemmender Einfluss auf das Wachstum von *Escherichia coli* beobachtet werden. Nach 12 h und 20 h wird mit Ausnahme der höchsten Verdünnung eine Zunahme des Wachstums nachgewiesen. Wie aus der Tab. 14 zu entnehmen ist, werden die höchsten Keimzahlen nach 12 h bei einer Verdünnung von 25 mg/mL mit 111% gemessen. Diese positive Wachstumstendenz ist nach 20 h insgesamt etwas rückläufig. Zu diesem Zeitpunkt wird ein Maximum von 109% durch das Konzentrat 0,5 mg/mL erreicht.

Insgesamt unterscheiden sich die hergestellten Verdünnungen nach 20 h, bis auf das 0,5 mg/mL Extrakt, nicht signifikant gegenüber dem Standardwachstum des Keims.

Weiterhin sind auffallend die hohen Streuungen der registrierten Werte, welche graphisch im Boxplott der Abb. 18 nach 6 h dargestellt sind. Es ist vorstellbar, dass die Stärke des Wachstums zu diesem Zeitpunkt in einigen Messreihen unterschiedlich stark variiert.

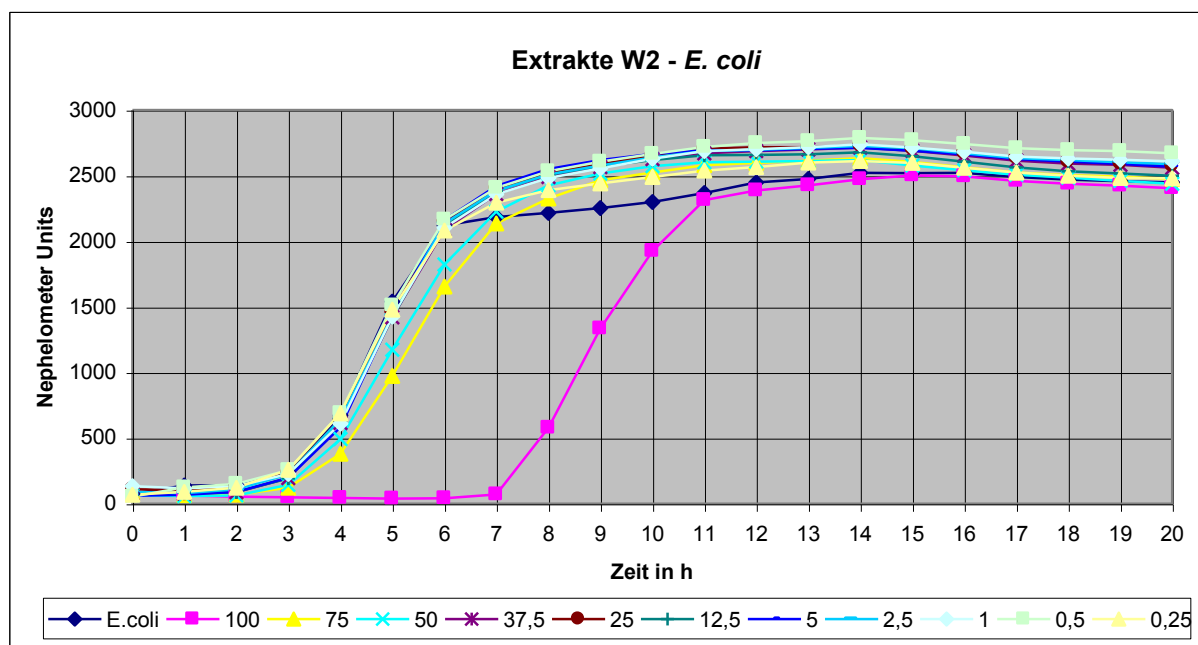


Abbildung 17: W2-*E. coli*; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

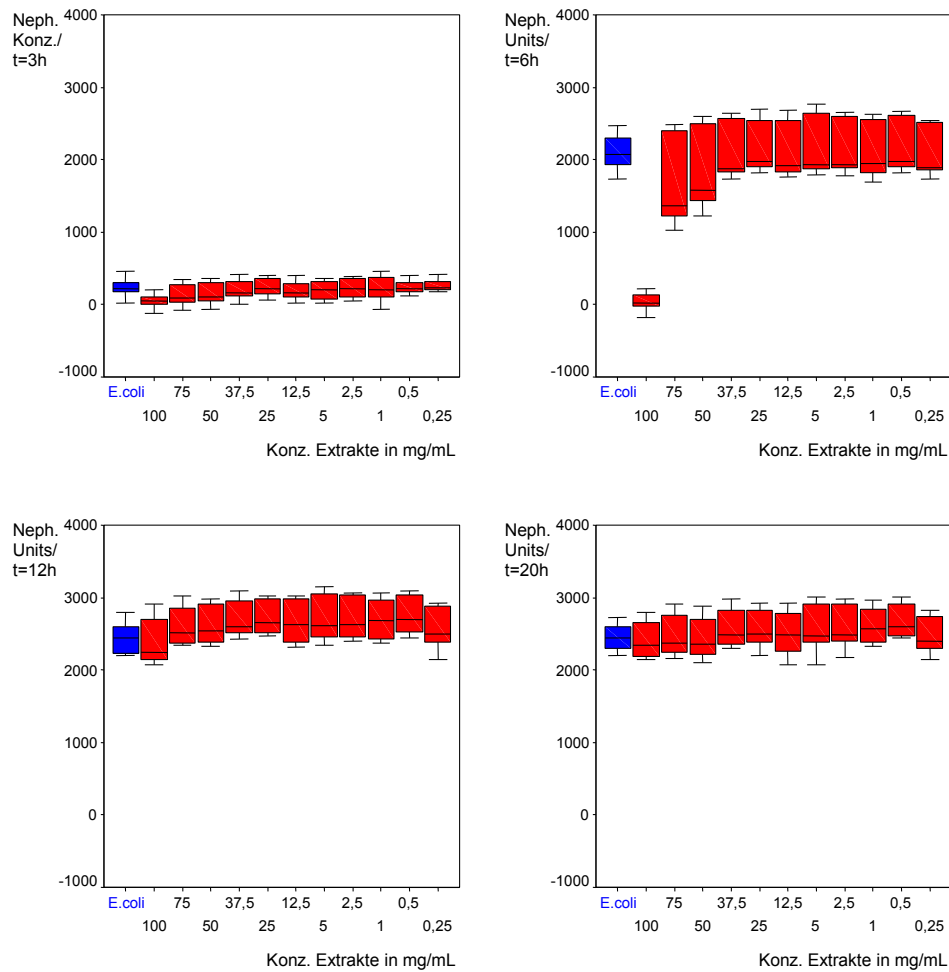


Abbildung 18: W2-*E. coli*; Boxplotdarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 14: *Escherichia coli* mit W2, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *E. coli*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,000	0,068	0,143	0,378	0,932	0,291	0,551	0,799	0,799	0,887	0,713
	Anteil in %	20	51	60	82	99	81	83	95	95	107	109
6h		0,000	0,089	0,178	0,347	0,932	0,551	0,713	0,671	0,671	0,977	0,443
		2	78	86	99	101	100	102	101	99	102	98
12h		0,410	0,178	0,143	0,039	0,017	0,114	0,060	0,033	0,024	0,012	0,319
		98	106	107	110	111	109	110	110	110	112	105
20h		0,443	0,977	0,713	0,378	0,219	0,799	0,410	0,347	0,143	0,033	0,799
		98	101	100	105	105	102	105	106	107	109	101

5.2 Wachstum von *Staphylococcus aureus* unter dem Einfluss der Textilextrakte

5.2.1 Wachstum von *Staphylococcus aureus* unter dem Einfluss der Extrakte F1

Die experimentellen Untersuchungen zur Bestimmung des Einflusses der Extrakte der Sea-Cell® Active-Faser F1 (Lyocell/ Alge/ Ag^+ -ionen) auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus* mit Hilfe eines Nephelometers zeigen bei Konzentrationen zwischen 12,5 mg/mL bis 100 mg/mL eine komplette Hemmung. So ist im Diagramm der Abb. 19 sowie den dargestellten Boxplots der Abb. 20 ersichtlich, dass über den gemessenen Zeitraum von 20 h kein Wachstum nachweisbar ist. Die hemmenden Verdünnungen unterscheiden sich nach 3 h bereits signifikant gegenüber dem Kontrollwachstum (*Staphylococcus aureus* ohne Zugabe der Extrakte). Zum Nachweis wird ein Mann–Witney–U–Test durchgeführt (Tab. 15), welcher in allen ausgewählten Messpunkten eine signifikante Abweichung zum Standardwachstum des Keims ergibt.

Bei den Konzentrationen 5 mg/mL; 2,5 mg/mL sowie 1 mg/mL liegt eine unvollständige Hemmung vor. Der Extrakt 5mg/mL zeigt ein nach 10 h verzögertes Wachstum und erreicht nach Ablauf der Messung lediglich 27% im Vergleich zu dem Kontrollwert des Keims.

Bei einer Verdünnung von 2,5 mg/mL ist nach 4 h ein reduziertes Wachstum zu beobachten, welches nach 20 h nicht mehr als 58% erreicht. Ebenfalls auffällig ist ein verringertes Wachstum bei einer Verdünnung von 1 mg/mL, welches nach 2 h einsetzt, sich aber nach 20 h bis auf 8% dem Standardwachstum des Bakteriums annähert (Tab. 15).

Die niedrigsten Konzentrate 0,5 mg/mL und 0,25 mg/mL unterscheiden sich über die gesamte Messung nicht signifikant im Vergleich zu dem Kontrollwachstum, es sind daher keine Anzeichen einer Hemmung oder Förderung des Wachstums zu erkennen.

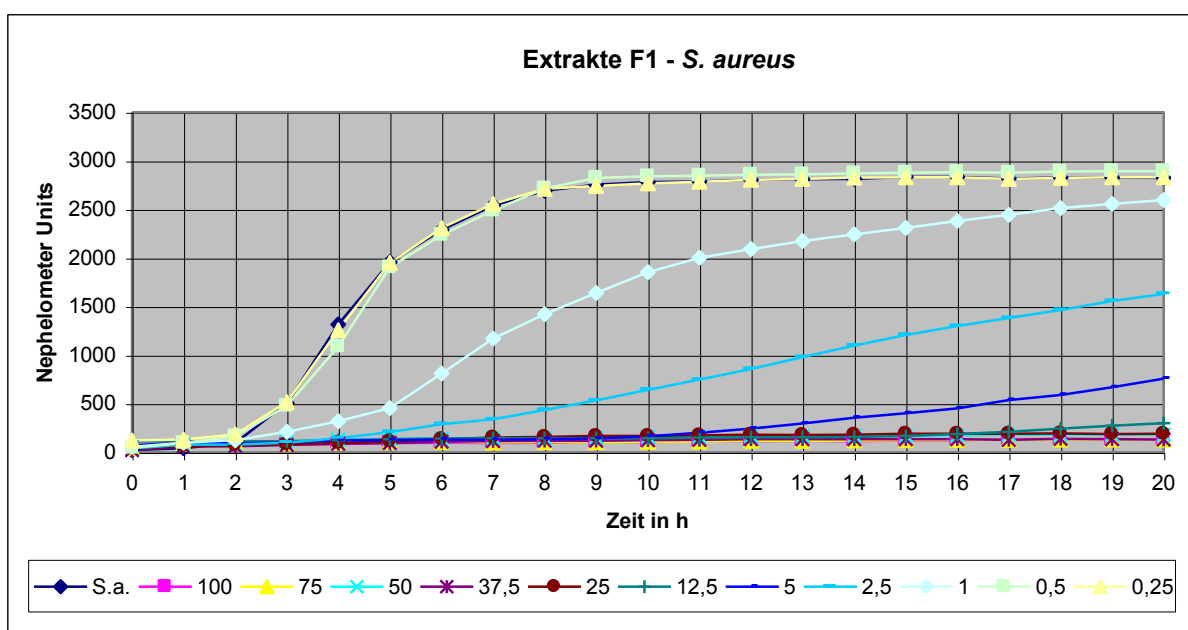


Abbildung 19: F1-*S. aureus*; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

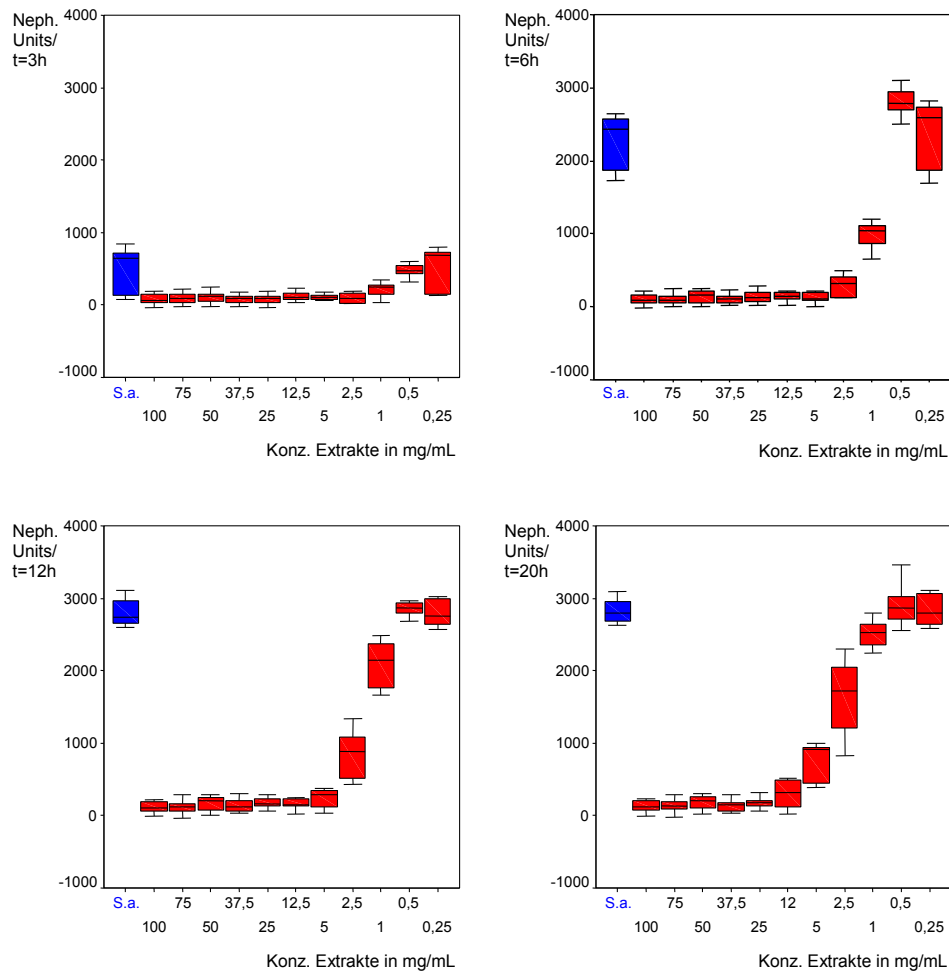


Abbildung 20: F1-*S. aureus*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 15: *Staphylococcus aureus* mit F1, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *S. aureus*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,001	0,001	0,006	0,001	0,001	0,007	0,004	0,003	0,052	0,198	0,671
	Anteil in %	16	19	21	15	16	23	20	19	42	95	103
6h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,178	0,410
		4	5	6	5	6	6	6	13	35	98	101
12h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,266	0,799
		4	4	6	5	6	6	9	30	75	102	100
20h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,002	0,478	0,887
		5	5	6	5	7	11	27	58	92	102	100

5.2.2 Wachstum von *Staphylococcus aureus* unter dem Einfluss der Extrakte F2

Die Untersuchungen mittels des Mikroplattennephelometers, den Einfluss der Extrakte der SeaCell® Faser F2 (Lyocell/ Alge) auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus* zu bestimmen, zeigen über den gemessenen Zeitraum von 20 h keine Anzeichen einer Hemmung.

Wie aus dem Diagramm der Abb. 21 und der Tab. 16 nach 12 h sichtbar wird, tritt bei den Konzentrationen größer gleich 5 mg/mL ein deutliches Wachstumsplus gegenüber dem Kontrollwert (Wachstum *Staphylococcus aureus* ohne den Einfluss von Extrakten) auf.

Dabei scheinen nach 12 h die Konzentrationen 50 mg/mL mit 119%, 25 mg/mL mit 118% und 37,5 mg/mL mit einem Wachstum von 121% für das Bakterium die günstigsten Bedingungen zu bieten. Zum Ende der Messung, nach 20 h, ist diese Tendenz weiterhin zu beobachten, fällt aber mit Maximalwerten von 119% bei 50 mg/mL und 118% bei 37,5 mg/mL etwas niedriger aus.

Bei den Verdünnungen kleiner als 5 mg/mL ist kein signifikanter Unterschied zu der Standardkurve des Keims über den zeitlichen Verlauf der Messung nachweisbar.

In den dargestellten Boxplots der Abb. 22 ist nach 3 h und nach 6 h eine höhere Streuung im Vergleich zu den späteren Zeitpunkten erkennbar. Es ist vorstellbar, dass in einigen der zwölf Messreihen zu diesem frühen Zeitpunkt der Untersuchung ein etwas stärkeres Wachstum, in wenigen anderen hingegen, ein verzögerter Wachstumsbeginn stattfindet.

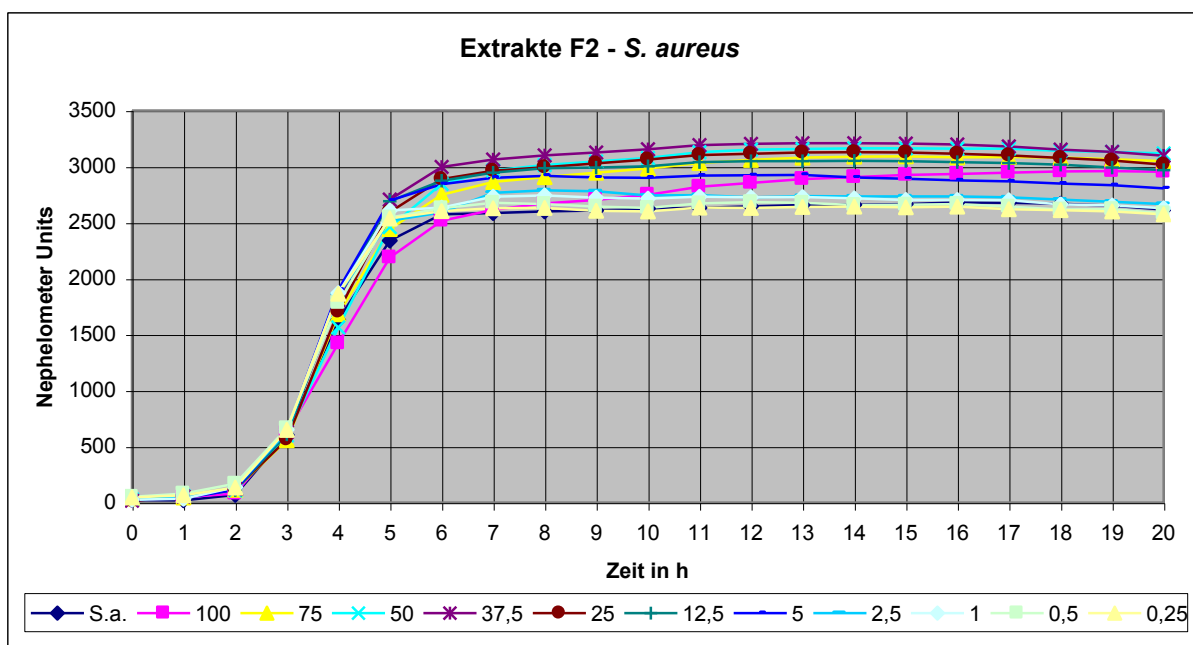


Abbildung 21: F2-*S. aureus*; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

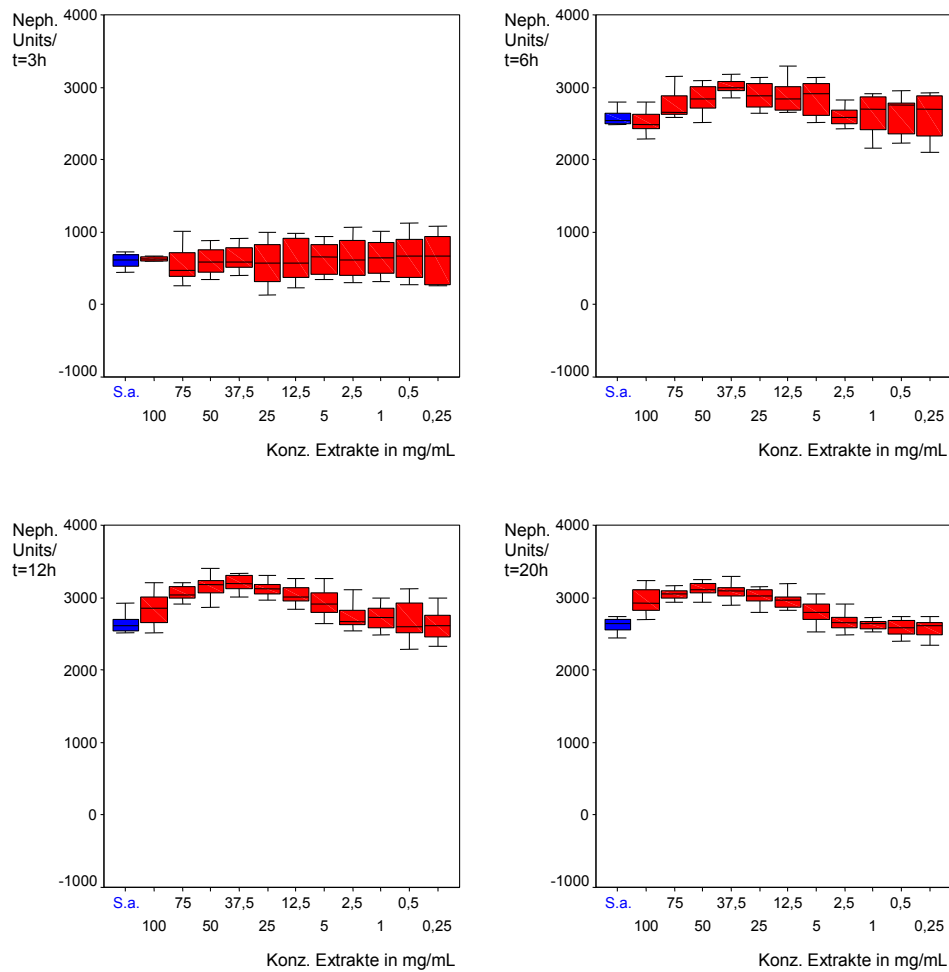


Abbildung 22: F2-*S. aureus*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 16: *Staphylococcus aureus* mit F2, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *S. aureus*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,713	0,291	0,932	1,000	0,671	0,630	0,630	0,977	0,630	0,514	0,514
	Anteil in %	104	92	100	104	93	101	106	105	108	110	107
6h		0,143	0,004	0,000	0,000	0,000	0,004	0,004	0,799	0,378	0,319	0,551
		98	107	110	116	112	112	110	101	102	102	101
12h		0,017	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,242	0,219	0,799	0,671
		108	116	119	121	118	115	110	103	103	101	99
20h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,443	0,932	0,514	0,378
		113	116	119	118	115	113	107	102	100	99	98

5.2.3 Wachstum von *Staphylococcus aureus* unter dem Einfluss der Extrakte F3

Die Untersuchungsergebnisse der in-vitro Testungen, den Einfluss der Lyocell Faserextrakte F3 auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus* zu bestimmen, zeigen über den gemessenen Zeitraum von 20 h keine Anzeichen einer Hemmung. Wie in dem Diagramm der Abb. 23, sowie in den Boxplots der Abb. 24 graphisch dargestellt ist, kann keine Wachstumshemmung nachgewiesen werden.

Die Zugabe der Lyocell Extrakte wirkt aber ab einer Konzentration größer gleich 5 mg/mL auf das Wachstum des Keims förderlich. Wie mit Hilfe des Mann–Witney–U–Test ermittelt und in Tab. 17 dargestellt ist, unterscheiden sich dabei die Konzentrationen zwischen 5 mg/mL und 50 mg/mL nach einer Messzeit von 12 h signifikant gegenüber dem Kontrollwachstum des Bakteriums (*Staphylococcus aureus* ohne Zugabe der Extrakte). So kann nach einem Zeitraum von 12 h bei einer Verdünnung von 37,5 mg/mL der höchste Anstieg des Wachstums von 112% und nach 20 h von 110% gemessen werden.

Die Verdünnungen der Extrakte 75 mg/mL sowie 100 mg/mL verhalten sich mit einem Wachstum von 104% bzw. 103% nach 12 h nicht signifikant gegenüber dem Standardwachstum von *S. aureus*. Zum Abschluss der Messung ist eine Signifikanz mit einem Wachstum von 108% bei 100 mg/mL und 107% bei 75 mg/mL auch hier nachweisbar.

Im Gegensatz dazu lassen sich die geringeren Konzentrationen zwischen 0,25 mg/mL und 2,5 mg/mL zu allen vier Zeitpunkten (3 h, 6 h, 12 h und 20 h) nicht signifikant gegenüber dem Kontrollwachstum differenzieren (siehe Tab. 17).

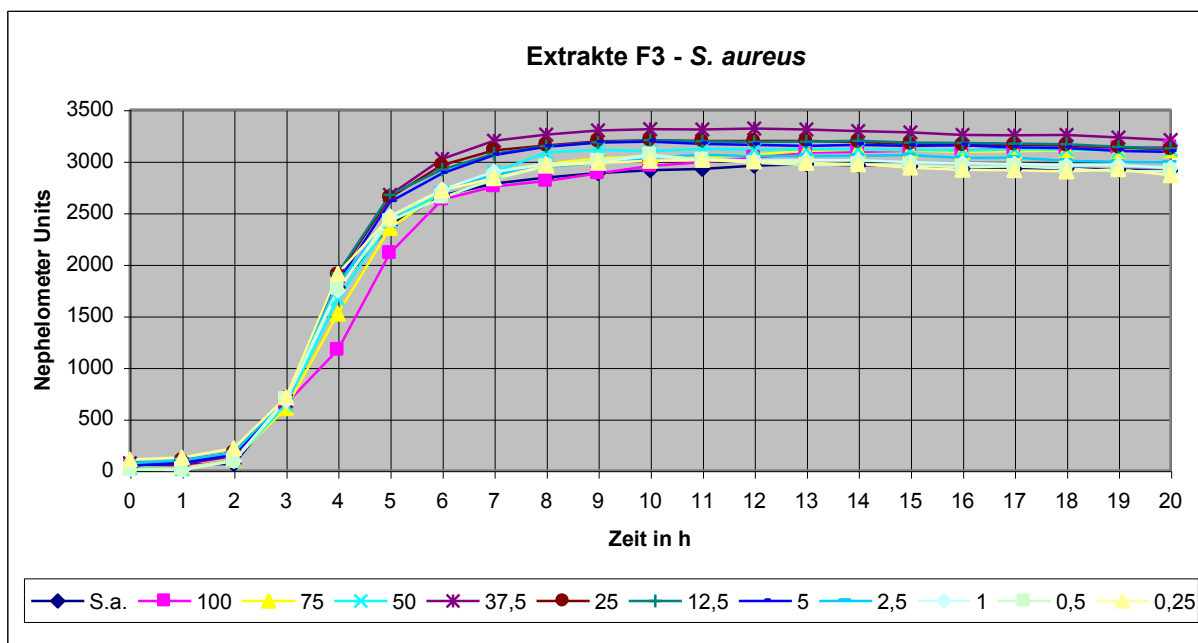


Abbildung 23: F3-*S. aureus*; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

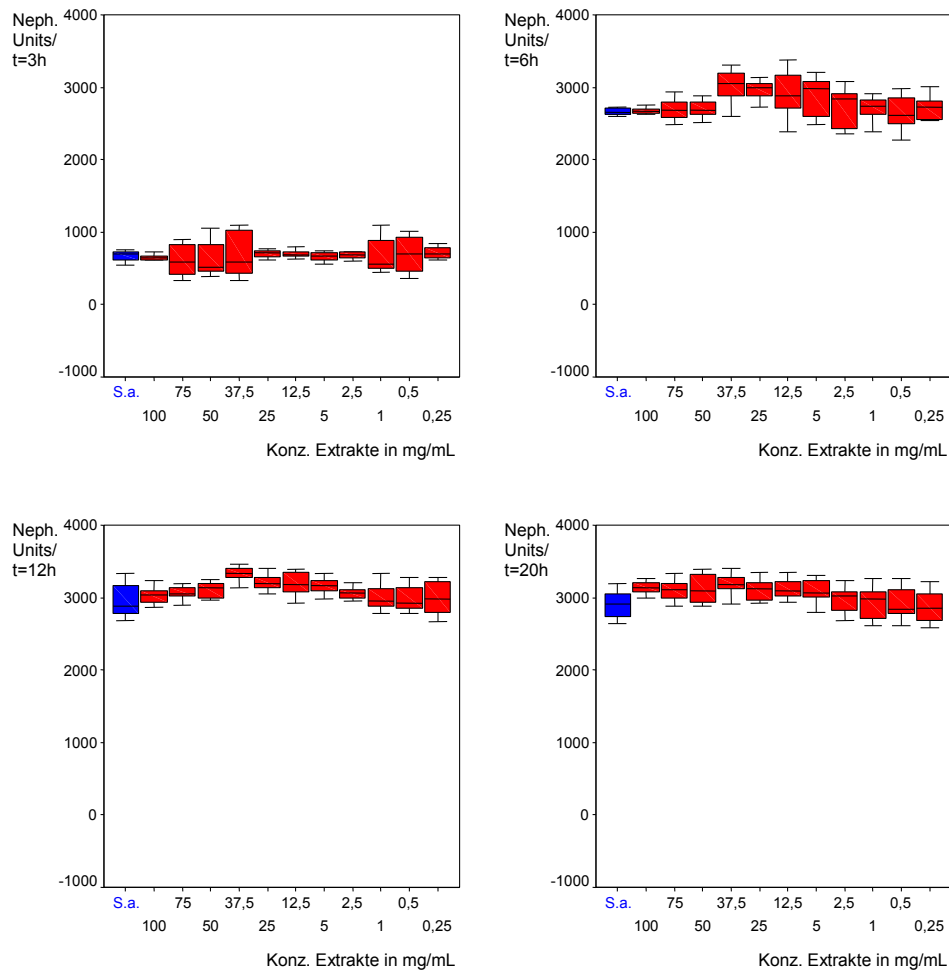


Abbildung 24: F3-*S. aureus*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 17: *Staphylococcus aureus* mit F3, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *S. aureus*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,160	0,590	0,410	0,551	0,266	0,799	0,478	0,755	0,347	0,932	0,347
	Anteil in %	96	89	94	100	104	103	97	104	100	103	105
6h		0,799	0,713	0,590	0,000	0,000	0,028	0,060	0,410	0,291	0,410	0,551
		99	101	101	113	111	109	108	102	102	99	102
12h		0,266	0,178	0,039	0,000	0,008	0,014	0,024	0,219	0,410	0,478	0,671
		103	104	105	112	108	108	107	103	102	101	101
20h		0,001	0,017	0,024	0,000	0,014	0,012	0,033	0,347	0,799	0,932	0,630
		108	107	107	110	107	107	106	103	101	100	98

5.2.4 Wachstum von *Staphylococcus aureus* unter dem Einfluss der Extrakte G5

In den Untersuchungsreihen zur Bestimmung des Einflusses der Extrakte G5 (bestehend aus SeaCell® Active 10%, SeaCell® 20% und Lyocell 70%) auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus* kann über den Zeitraum von 20 h eine unvollständige Hemmung durch die Konzentrationen 100 mg/mL; 75 mg/mL; 50 mg/mL; 37,5 mg/mL sowie 25 mg/mL, durch das Mikropplatten-nephelometer nachgewiesen werden.

Auffällig ist im Diagramm der Abb. 25, dass bei der mit 100 mg/mL höchsten Verdünnung ein nach 7 h deutlich verzögertes Wachstum einsetzt, welches nach 12 h lediglich 42% beträgt und sich erst nach 18 h nicht mehr signifikant vom Kontrollwachstum (*Staphylococcus aureus* ohne Extrakte) unterscheiden lässt.

Bei den Konzentrationen 75 mg/mL und 50 mg/mL kann ein Start des Wachstums nach 4 h beschrieben werden. Beide Verdünnungen unterscheiden sich nach 12 h nicht mehr signifikant gegenüber dem Standardwachstum des Keims (Tab. 18).

Eine sehr geringe Hemmung wird bei den Konzentrationen von 37,5 mg/mL und 25 mg/mL beobachtet, welche bereits nach 6 h ein Wachstum von 65% bzw. 68% aufweisen.

Kein hemmender Einfluss ist bei den Extrakten kleiner gleich 12,5 mg/mL nachweisbar, sie unterscheiden sich nach 3 h und 6 h nicht signifikant vom Standardwachstum.

Nach 12 h sowie 20 h ist bei allen Konzentrationen im Vergleich zu dem Kontrollwachstum ein Anstieg des Wachstums zu erkennen, welches bei 50 mg/mL und 37,5 mg/mL mit jeweils 111% am stärksten ausgebildet ist.

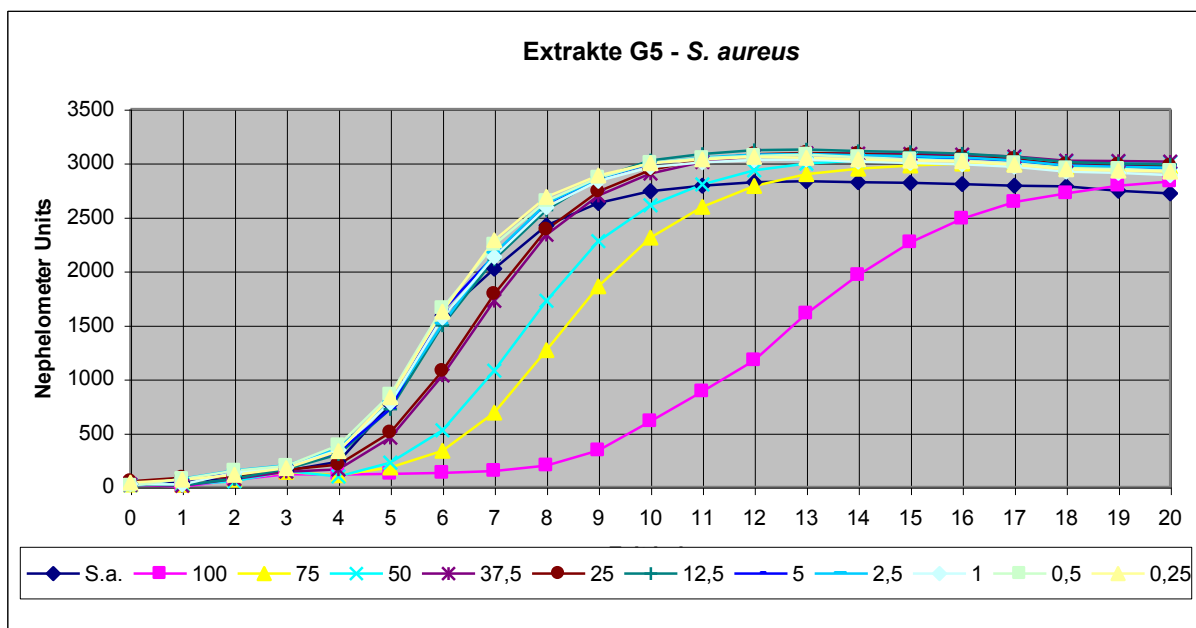


Abbildung 25: G5-*S. aureus*; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

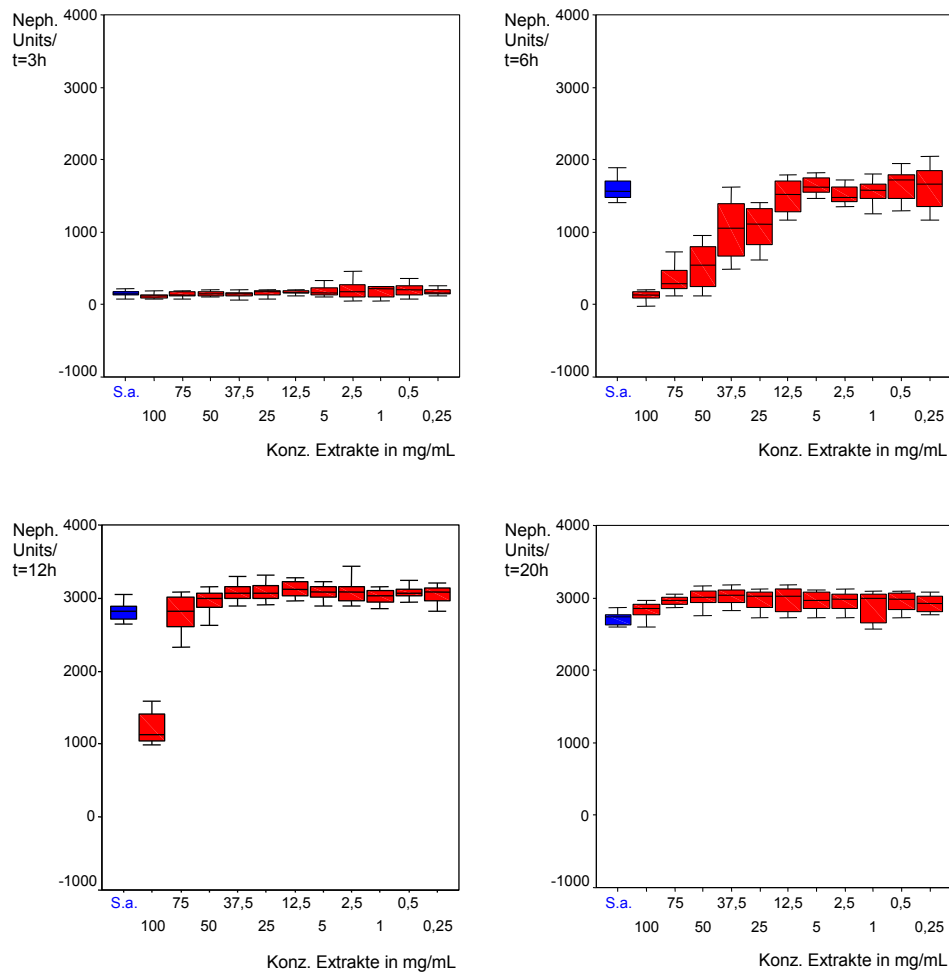


Abbildung 26: G5-*S. aureus*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 18: *Staphylococcus aureus* mit G5, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *S. aureus*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,045	0,478	0,713	0,551	0,319	0,291	0,347	0,443	0,143	0,219	0,443
	Anteil in %	80	93	99	96	107	111	127	135	122	130	116
6h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,478	0,319	0,178	1,000	0,319	0,630
		8	21	33	65	68	94	103	95	99	104	103
12h		0,000	0,977	0,078	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		42	101	104	109	109	111	109	109	107	109	108
20h		0,010	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,101	0,002	0,000
		104	109	111	111	109	110	109	109	106	108	107

5.2.5 Wachstum von *Staphylococcus aureus* unter dem Einfluss der Extrakte V1

Bei den Untersuchungen zur Beobachtung des Einflusses der Extrakte V1, hergestellt aus wasserstrahlverfestigtem Vlies (bestehend aus SeaCell® Active 20% und Lyocell 80%), auf das Wachstumsverhalten von *Staphylococcus aureus* kann mittels der Mikroplattennephelometrie über den zeitlichen Verlauf von 20 h eine unvollständige Hemmung nachgewiesen werden.

Wie aus dem Diagramm der Abb. 27 und den Boxplots der Abb. 28 abzulesen ist, tritt bei der mit 100 mg/mL höchsten Verdünnung ein verzögertes Wachstum auf. Es beginnt nach 4 h, beträgt nach 6 h 27% sowie nach 12 h 82% im Vergleich zum Standardwachstum und unterscheidet sich nach 14 h nicht mehr signifikant gegenüber dem Kontrollwachstum (*Staphylococcus aureus* ohne Extrakte).

Bei den Konzentrationen 75 mg/mL und 50mg/mL ist die erzielte Hemmung nach 6 h mit 65% bzw. 73% sehr gering. Nach 11 h unterscheiden sich diese Extrakte nicht mehr signifikant gegenüber dem Standardwachstum von *S. aureus*.

Zum Ende der Messung, nach Ablauf der 20 h ist bei allen Konzentrationen mit Werten zwischen 106% bis 112% ein positiver Effekt auf das Wachstum der Bakterien zu beobachten, wie der Tab. 19 zu entnehmen ist.

Auffallend sind die hohen Streuungen der ermittelten Werte nach 6 h, welche graphisch im Boxplot der Abb. 28 dargestellt sind. Es ist vorstellbar, dass die Stärke des Wachstums zu diesem Zeitpunkt in einigen Messreihen variiert.

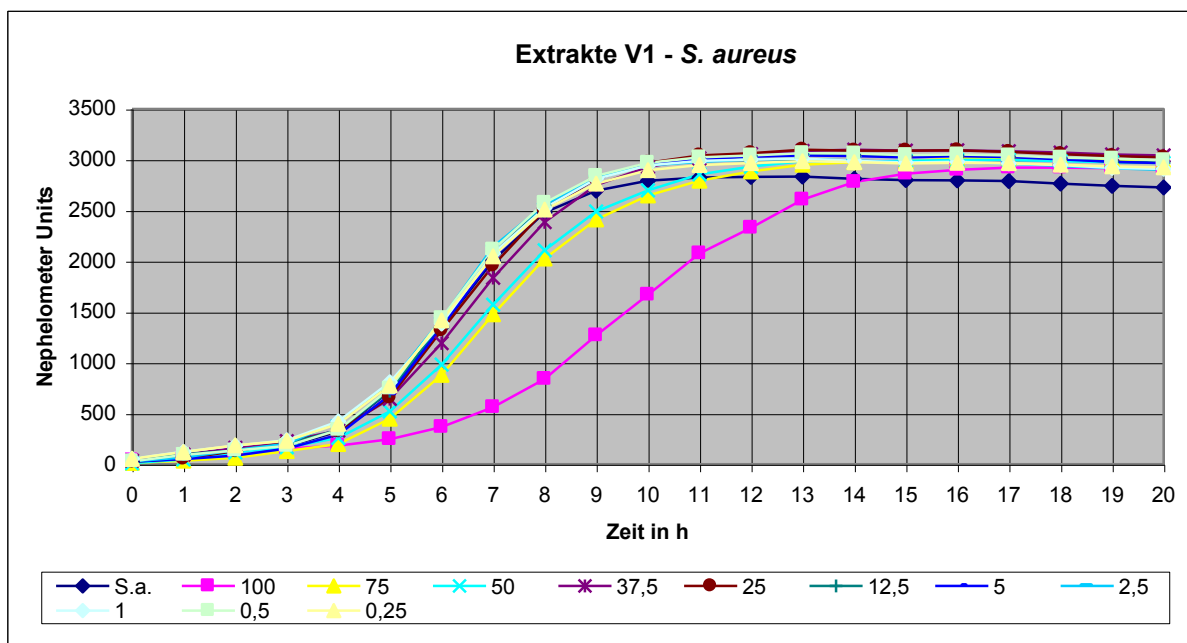


Abbildung 27: V1-S. aureus; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

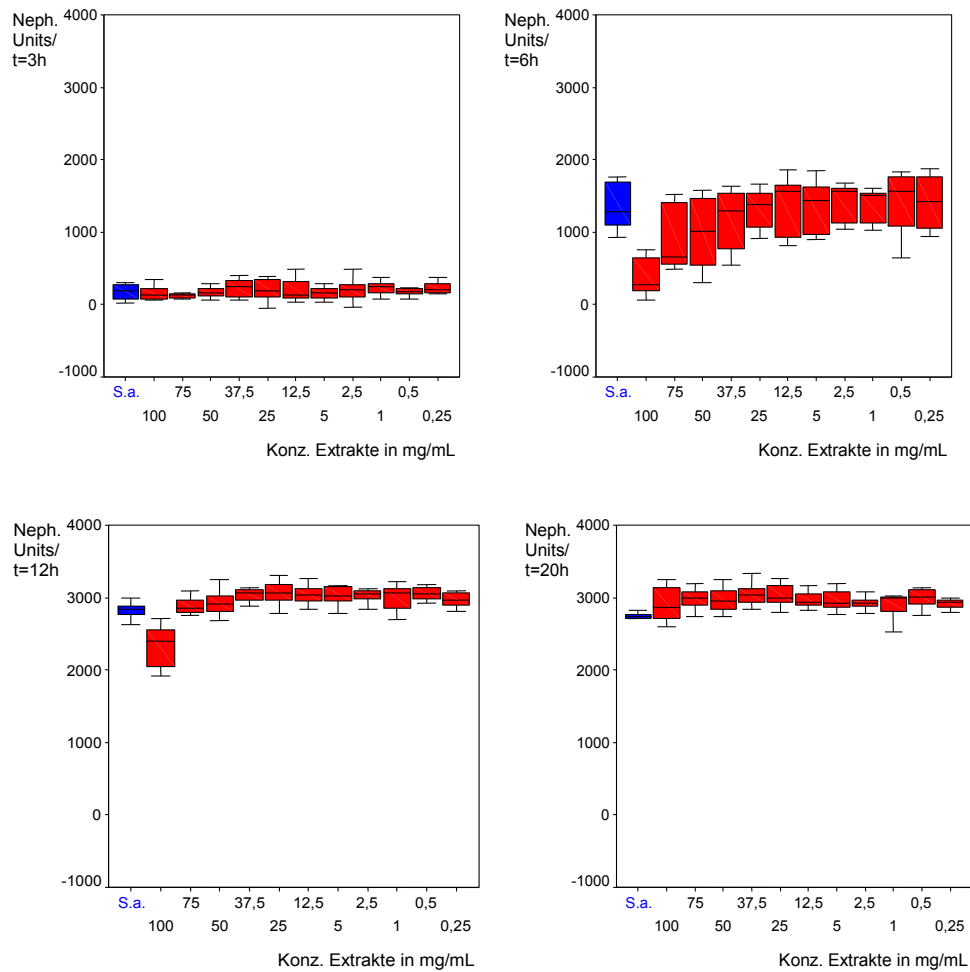


Abbildung 28: V1-*S. aureus*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 19: *Staphylococcus aureus* mit V1, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *S. aureus*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,671	0,198	0,799	0,347	0,443	0,887	0,514	0,755	0,291	0,932	0,291
	Anteil in %	88	74	95	129	120	112	89	114	134	103	132
6h		0,000	0,014	0,045	0,514	0,671	0,977	0,932	0,843	0,887	0,319	0,551
		27	65	73	89	98	103	100	106	103	107	105
12h		0,000	0,266	0,114	0,000	0,000	0,000	0,001	0,001	0,014	0,000	0,003
		82	102	104	108	108	107	107	106	106	108	105
20h		0,089	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,003	0,000	0,000
		106	110	109	112	111	109	109	108	107	110	107

5.2.6 Wachstum von *Staphylococcus aureus* unter dem Einfluss der Extrakte V2

Bei den Untersuchungen zur Bestimmung des Wachstumsverhaltens von *Staphylococcus aureus* unter dem Einfluss der Extrakte des wasserstrahlverfestigten Vlieses V2 (bestehend aus SeaCell® Active 100%) kann eine unvollständige Hemmung nachgewiesen werden.

So verdeutlicht die graphische Darstellung in Abb. 29 den Sachverhalt, dass bei der mit 100 mg/mL höchsten Konzentration nach 9 h ein deutlich späteres Wachstum einsetzt, welche nach 12 h um 72% inhibiert wird und sich nach 20 h nicht mehr signifikant vom Kontrollwachstum (*Staphylococcus aureus* ohne Extrakte) unterscheiden lässt.

Bei den Verdünnungen 75 mg/mL und 50 mg/mL kann ein im Vergleich zum Standardwachstum um 2 h verzögerter Wachstumsbeginn beobachtet werden. Das Wachstum wird dabei nach 6 h um 72% bzw. 63% gehemmt und unterscheidet sich nach 12 h mit 97% bzw. 98% nicht mehr signifikant gegenüber dem Standardwachstum des Keims (Tab. 20).

Bei Konzentration zwischen 12,5 mg/mL und 0,25 mg/mL ist der Nachweis einer Hemmung oder einer Wachstumsverzögerung nicht feststellbar, mit Werten zwischen 106% und 110% liegt das Wachstum der Bakterien über dem des Kontrollwertes. Nach dem Mann–Witney–U–Test unterscheiden sich diese allerdings nach Beendigung der Messung nicht signifikant vom Standardwachstum, wie in Tab. 20 dargestellt ist.

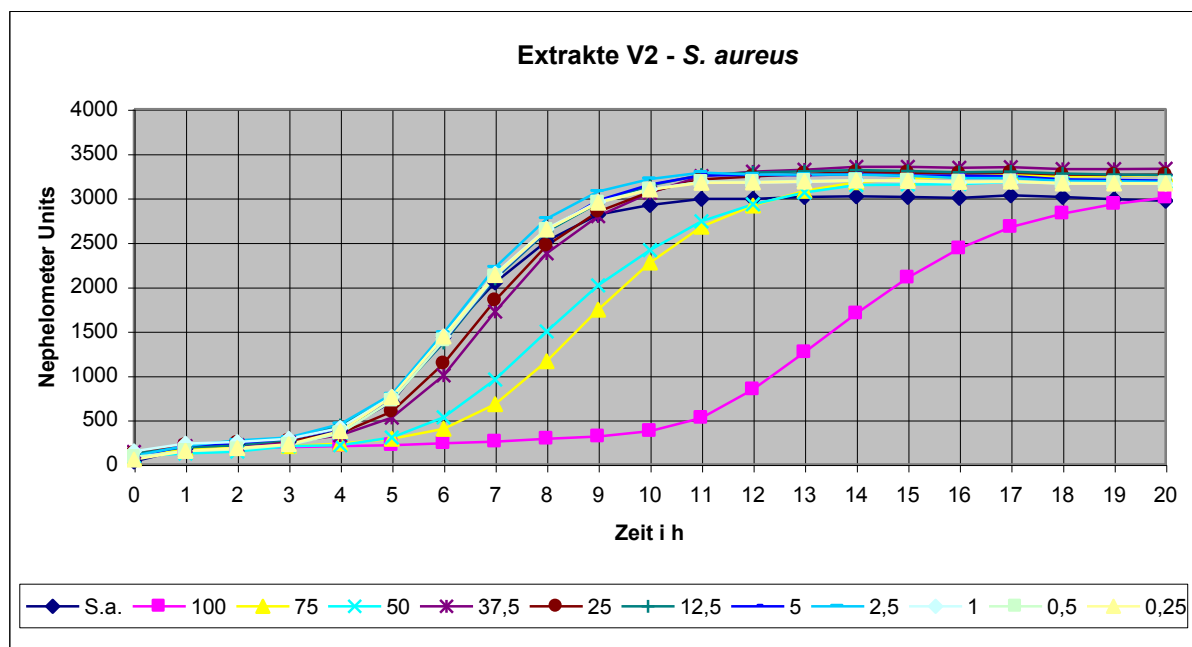


Abbildung 29: V2-S. aureus; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

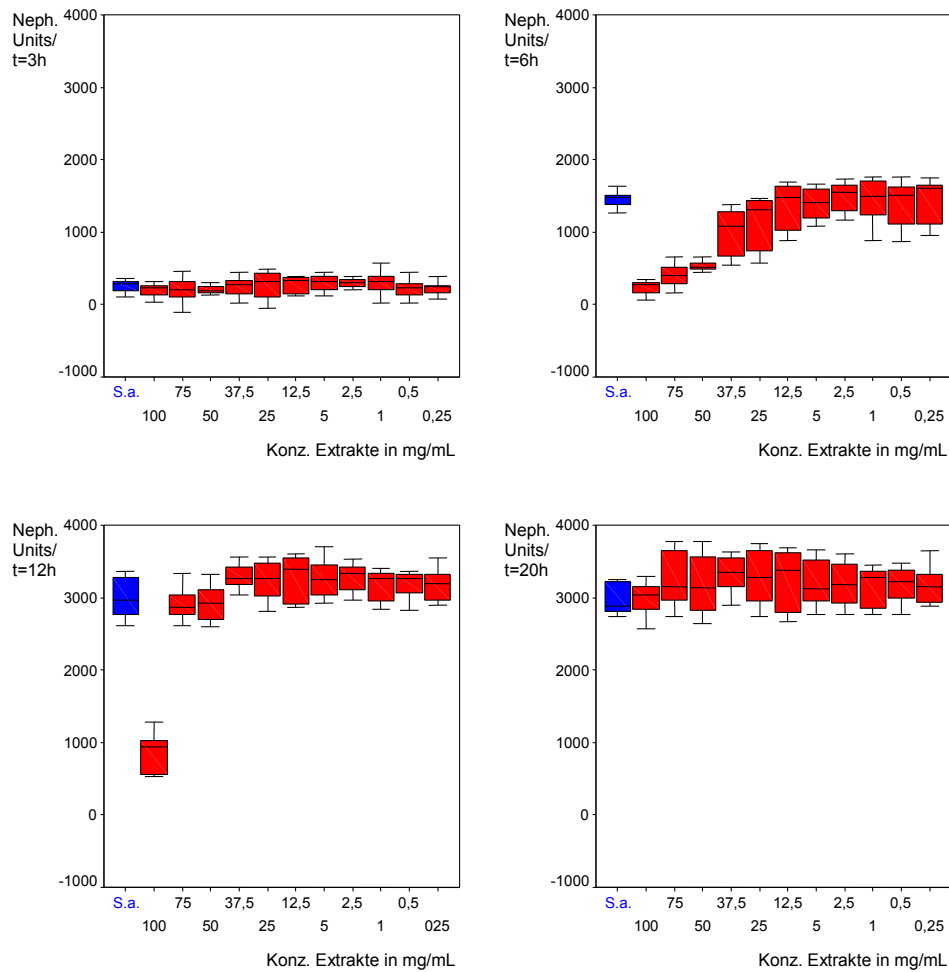


Abbildung 30: V2-*S. aureus*; Boxplottedarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 20: *Staphylococcus aureus* mit V2, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *S. aureus*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,143	0,443	0,114	0,932	0,630	0,478	0,319	0,242	0,443	0,219	0,378
	Anteil in %	76	79	80	97	103	108	112	117	113	86	89
6h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,004	0,977	0,932	0,347	0,671	0,755	0,378
		17	28	37	70	79	96	97	103	101	97	100
12h		0,000	0,514	0,630	0,010	0,045	0,020	0,033	0,008	0,101	0,114	0,128
		28	97	98	110	108	110	109	109	106	105	106
20h		0,551	0,024	0,291	0,001	0,033	0,101	0,089	0,069	0,089	0,052	0,052
		101	110	107	112	110	110	108	107	106	107	107

5.2.7 Wachstum von *Staphylococcus aureus* unter dem Einfluss der Extrakte V3

Die in-vitro Testungen, mit Hilfe des Mikroplattennephelometers den Einfluss der Extrakte, hergestellt aus wasserstrahlverfestigtem Vlies V3 (bestehend aus 100% Lyocell Fasern), auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus* zu untersuchen, ergeben keine Anzeichen einer Hemmung.

Nach gemessenen 12 h ist bei allen Konzentrationen ein deutlicher Anstieg des Wachstums gegenüber dem Kontrollwert (Wachstum *Staphylococcus aureus* ohne den Einfluss von Extrakten) nachweisbar, was das Diagramm der Abb. 31 sowie die Boxplottedarstellung der Abb. 32 graphisch veranschaulichen.

Dabei tritt die stärkste Wachstumstendenz mit Werten von 108% bei den Konzentrationen 37,5 mg/mL, 5 mg/mL und 0,5 mg/mL auf, wie in Tab. 21 dargestellt ist.

Mit 101% fällt im Gegensatz dazu das Wachstum bei der mit 100 mg/mL höchsten Verdünnung am geringsten aus. Diese Tendenz ist auch bei den Konzentrationen 75 mg/mL und 50 mg/mL mit jeweils 102% erkennbar. Alle drei Extrakte unterscheiden sich daher nach 12 h nicht signifikant vom Standardwachstum des Keims, wie die Berechnungen durch den Mann–Whitney–U-Test ergeben.

Der positive Effekt der Textilienextrakte auf das Wachstum der Bakterien kann nach Abschluss der Messung nach 20 h weiterhin festgestellt werden. Die gemessenen Keimzahlen schwanken zwischen 105% bei den Konzentration der Extrakte 100 mg/mL und 75 mg/mL sowie 110% bei einer Verdünnung von 37,5 mg/mL.

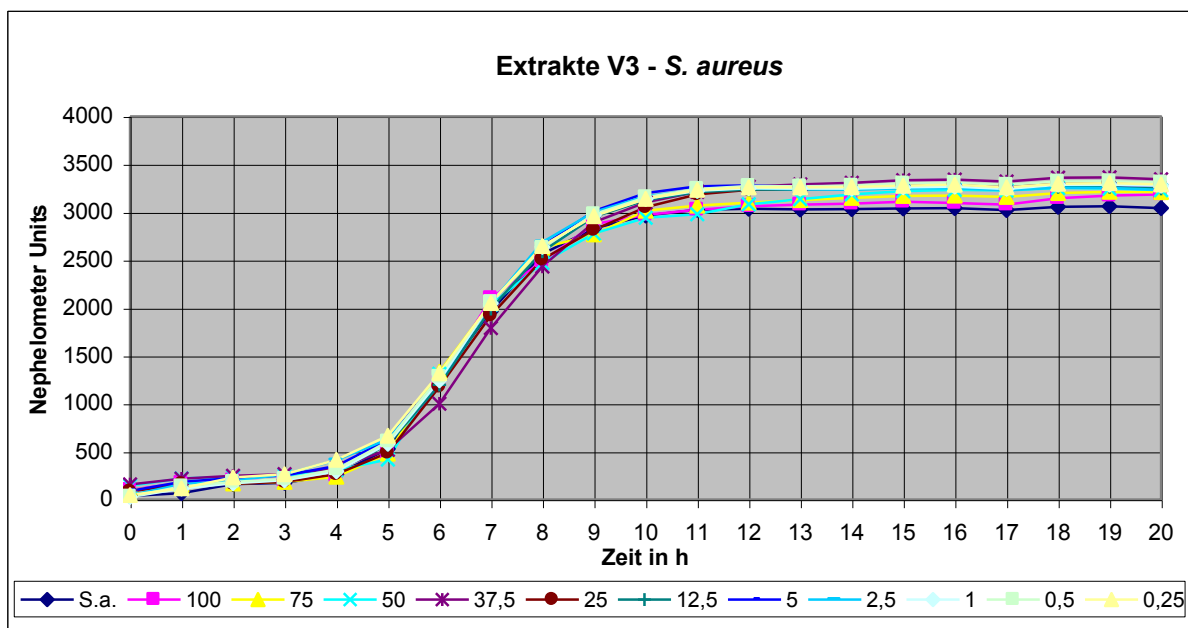


Abbildung 31: V3-*S. aureus*; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

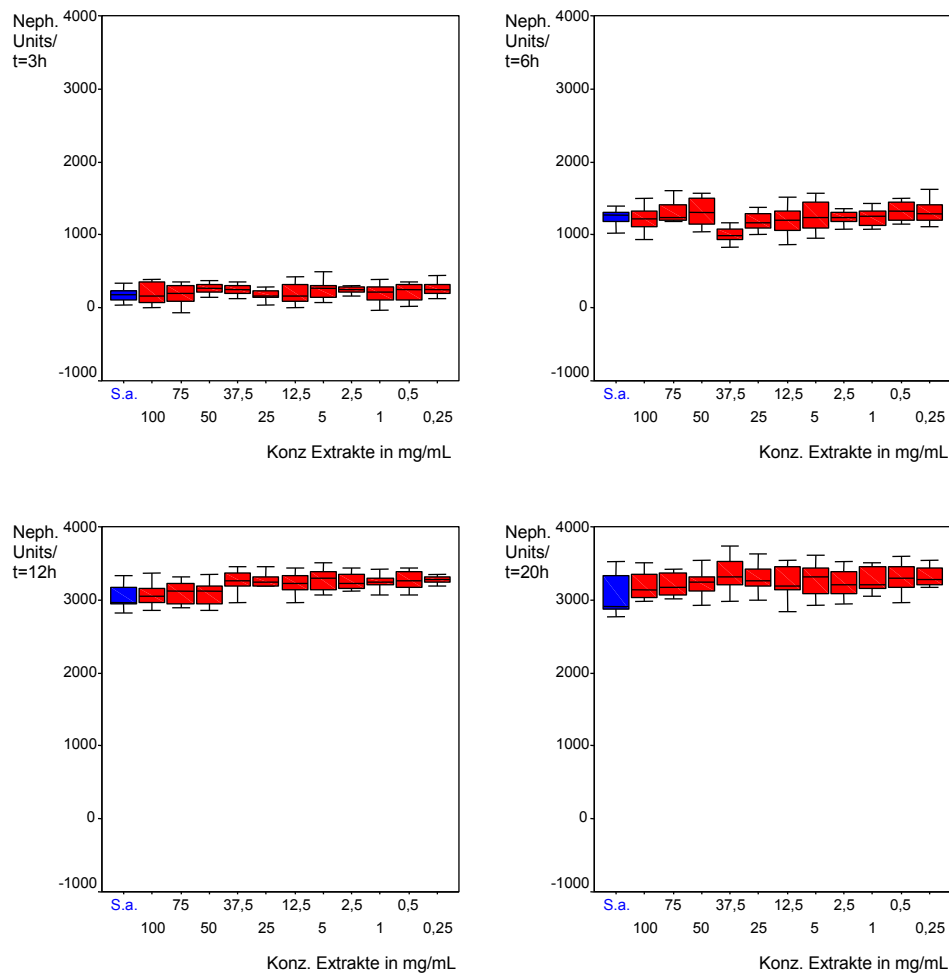


Abbildung 32: V3-*S. aureus*; Boxplottdarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 21: *Staphylococcus aureus* mit V2, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *S. aureus*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,887	0,671	0,045	0,033	0,671	0,755	0,114	0,033	0,478	0,410	0,052
	Anteil in %	115	106	144	152	104	116	143	150	115	123	151
6h		0,514	0,713	0,410	0,000	0,198	0,347	0,799	0,630	0,977	0,478	0,478
		97	107	105	80	94	96	101	99	100	103	105
12h		0,514	0,514	0,551	0,004	0,003	0,008	0,001	0,002	0,002	0,001	0,000
		101	102	102	108	106	107	108	107	107	108	106
20h		0,060	0,039	0,068	0,020	0,028	0,078	0,024	0,024	0,039	0,010	0,078
		105	105	106	110	108	107	108	106	108	109	108

5.2.8 Wachstum von *Staphylococcus aureus* unter dem Einfluss der Extrakte W2

Die nephelometrischen Untersuchungen mit der Zielstellung, den Einfluss der Gewebeextrakte W2 (bestehend aus Lyocell 85%, SeaCell® 10% und SeaCell® Active 5%) auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus* zu bestimmen, ergeben eine unvollständige Hemmung.

Wie aus dem Diagramm der Abb. 33, den Boxplots der Abb. 34 sowie der Tab. 22 zu entnehmen ist, können nach Abschluss der Messungen nach 20 h lediglich Keimzahlen von 12% im Vergleich zum Kontrollwachstum (*Staphylococcus aureus* ohne Zugabe der Extrakte) bei der mit 100 mg/mL höchsten Konzentration gemessen werden.

Bei den Verdünnungen der Extrakte 75 mg/mL und 50 mg/mL ist die nachgewiesene Wachstumshemmung wesentlich geringer, bereits nach 12 h wird ein Wachstum von 61% bzw. 93% erreicht. Keine Signifikanz gegenüber dem Standardwachstum des Keims kann bei einer Konzentration von 75 mg/mL nach 15 h und bei einer Verdünnung von 50 mg/mL nach 13 h beobachtet werden.

Ein leicht verzögerter Eintritt des Wachstums kann bei den Extrakten 37,5 mg/mL und 25 mg/mL beschrieben werden. Nach 10 h bzw. 9 h ist allerdings hier keine Signifikanz gegenüber dem Kontrollwachstum feststellbar.

Ab einer Konzentration von 12,5 mg/mL kann kein hemmender Einfluss auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus* nachgewiesen werden. Nach Ablauf der 20 h ist bei allen hergestellten Konzentraten kleiner als 100 mg/mL, ein begünstigender Effekt auf das Wachstum mit Werten zwischen 106% und 115% zu beobachten (Tab. 22).

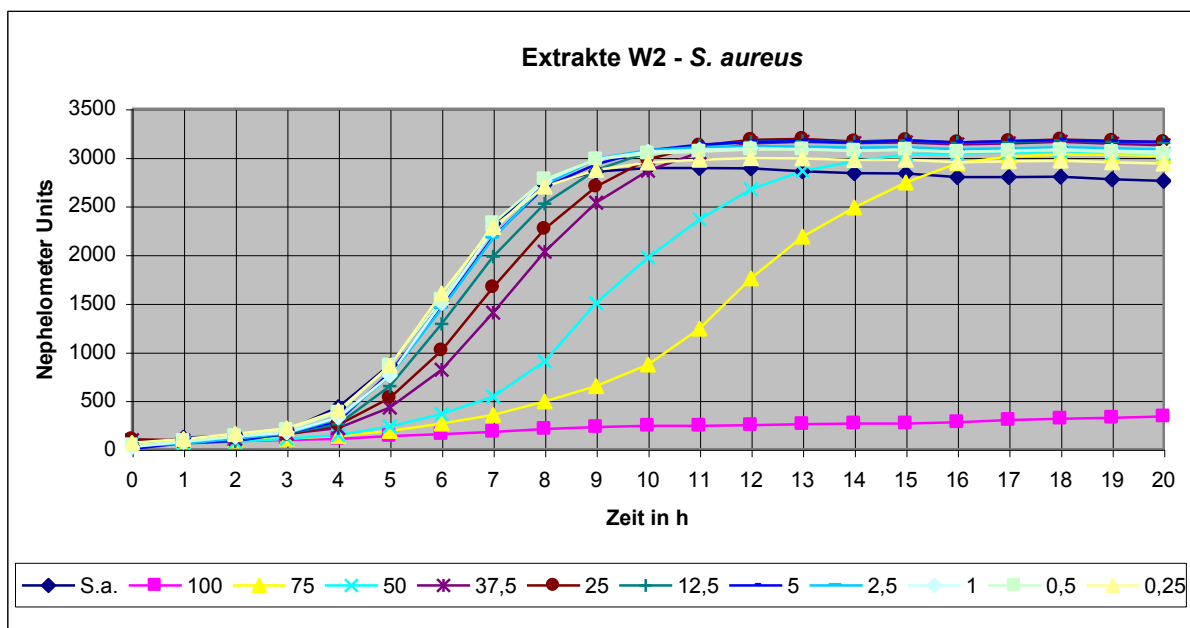


Abbildung 33: W2-*S. aureus*; Graphische Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.

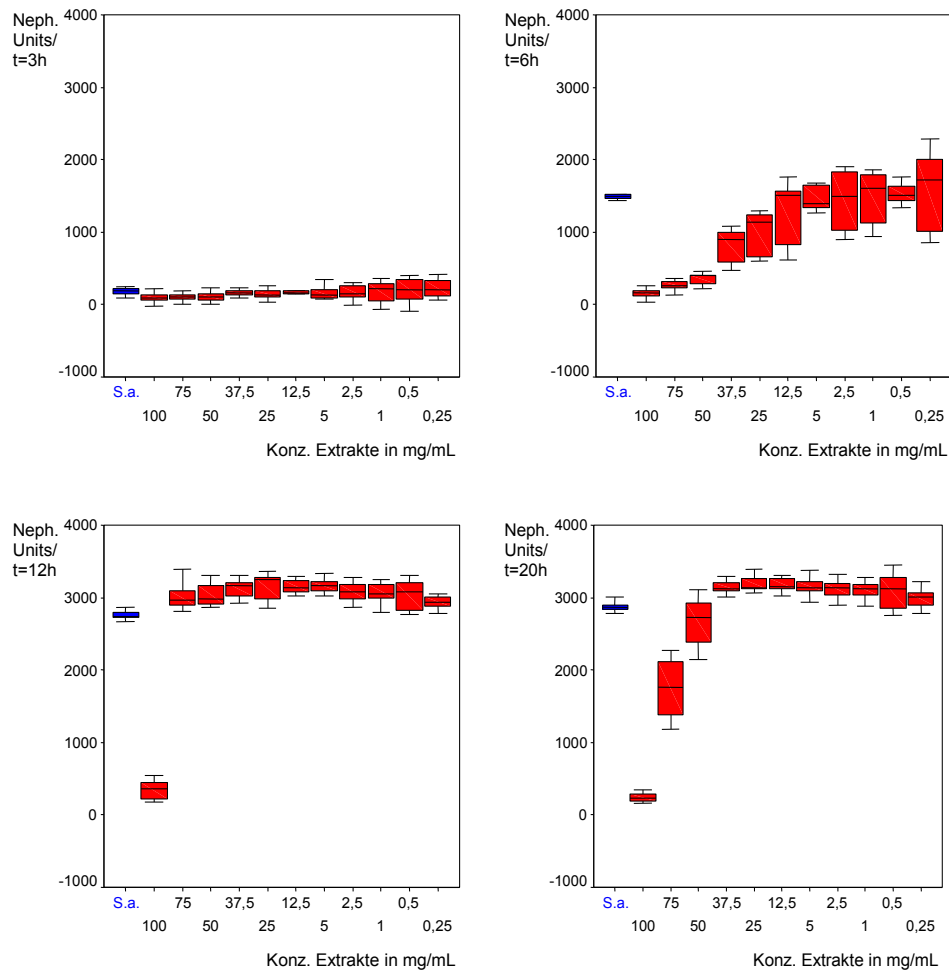


Abbildung 34: W2-*S. aureus*; Boxplottdarstellung, die Verteilung der Messwerte nach 3 h (oben links), 6 h (oben rechts), 12 h (unten links) und 20 h (unten rechts) sind graphisch aufgetragen.

Tabelle 22: *Staphylococcus aureus* mit V2, Signifikanz p und relativer Anteil in % zur Referenz (Kontrolle mit *S. aureus*), Signifikanter Wert $p < 0,05$ fett gedruckt.

	Konzentration in mg	100	75	50	37,5	25	12,5	5	2,5	1	0,5	0,25
3h	Signifikanz p	0,000	0,004	0,005	0,198	0,128	0,101	0,160	0,478	0,977	0,755	0,799
	Anteil in %	50	56	56	82	76	84	84	84	89	102	112
6h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,977	0,068	1,000	0,443	0,843	0,291
		10	17	24	53	66	84	95	95	98	100	105
12h		0,000	0,000	0,028	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,001	0,089	0,052
		9	61	93	109	110	109	109	108	107	107	104
20h		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
		12	109	110	113	115	114	115	112	111	110	106

6 Diskussion

6.1 Nachweis antimikrobieller Effekte von Textilextrakten auf *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* mit Hilfe eines Mikroplattennephelometers

Das Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss der hergestellten Textilextrakte auf die Bakterien *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* zu untersuchen. Dabei wurde das in früheren Messungen verwendete Antibiogramm durch den Einsatz eines Mikroplattennephelometers ersetzt. Zuerst wurde untersucht, mit welchen Extraktkonzentrationen ein Abtöten der Keime erreicht werden konnte. Dabei hatte sich in zahlreichen Voruntersuchungen eine Konzentration der Extrakte von 100 mg/mL als günstig erwiesen, weswegen dieser Wert als Bereich der maximalen Konzentration festgelegt wurde. Um jedoch einer differenzierten Betrachtung ihrer Wirkung gerecht werden zu können, wurden unterschiedliche Verdünnungen der Extrakte hergestellt.

Die dabei ermittelten Messwerte bestätigen die zuvor von Hipler et al. 2005 publizierten Ergebnisse. Durch diese Untersuchungen wurde der Nachweis erbracht, dass die verschiedenen Textilien eine unterschiedliche hemmende Wirkung auf beide Bakterienspezies ausüben. Die Effekte, welche die Textilien auf den mit Mikroorganismen bewachsenen Agarplatten erzeugten, wurden mit Hilfe der Hemmhofmessung quantifiziert. Die Inhibitionszone, die die antibakterielle Aktivität bestimmt, (Rodgers et al. 1997) wurde nach 24 Stunden bei einer Temperatur von 37 °C gemessen. Wie aus der Abb. 35 ersichtlich wird, war der antibakterielle Effekt bei einem Gehalt von 100% SeaCell® Active-Fasern (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen) am größten. Hingegen keine hemmende Wirkung konnte bei den Lyocell- und SeaCell® Fasern gefunden werden.

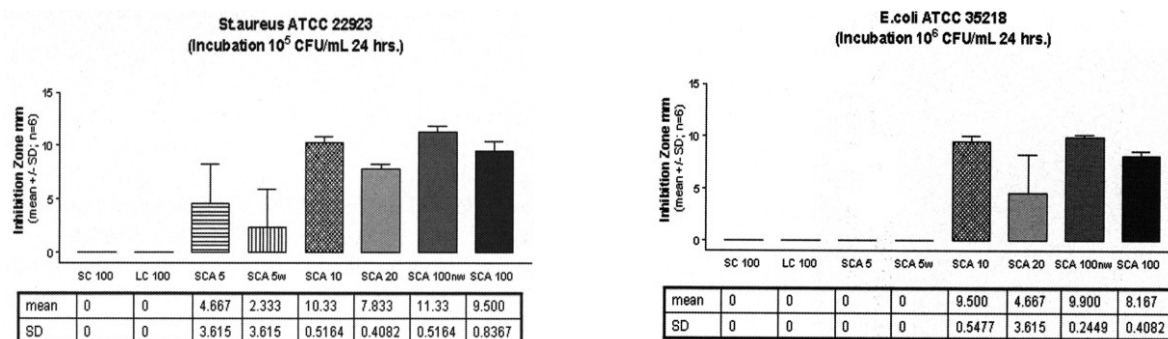


Abbildung 35: Hemmhofmessung nach 24 h, antibakterieller Effekt gegen *Staphylococcus aureus* ATCC 22923 und *Escherichia coli* ATCC 35218, (SC 100 = SeaCell® 100%, LC 100 = Lyocell 100%, SCA 100 = SeaCell® Active 100%, SCA 100nw = SeaCell® Active 100% nonwoven, SCA 5-20 = SeaCell® Active 5-20%), Hipler et al. 2005.

Neben dem antibakteriellen Effekt wurde die antimykotische Wirkung von SeaCell® Active-Fasern gegen verschiedene Pilze der Familie *Candida*, nämlich *Candida albicans*, *Candida krusei* und *Candida tropicalis* mittels des Agardiffusionstestes geprüft. Auch hier konnte eine dosisabhängige Inhibierung des Pilzwachstums bedingt durch die SeaCell® Active-Fasern beschrieben werden (Hipler et al. 2005).

Für die abschließende und zusammenfassende Interpretation der Ergebnisse dieser Arbeit muss man die Gesamtheit aller Boxplots, der Diagramme sowie der tabellarischen Auswertungen der jeweiligen Textilextrakte zu Grunde legen. In den Diagrammen der Abbildungen 36 und 37 sind alle Daten der durchgeführten in-vitro Tests, welche durch die Mikroplattennephelometrie ermittelt wurden, graphisch aufgetragen.

Die Textilextrakte F1, bestehend aus 100% SeaCell® Active-Fasern (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen) führten zu einer besonders intensiven wachstumshemmenden Wirkung beider Bakterienstämme. Die Wells, in denen kein Bakterienwachstum im Nephelometer gemessen werden konnte, wurden auf Blutagar überimpft. Als auch nach 24 Stunden bei einer Temperatur von 37 °C keine Kolonien gezählt werden konnten, war der Nachweis eines bakteriziden Effektes auf die Mikroorganismen erbracht.

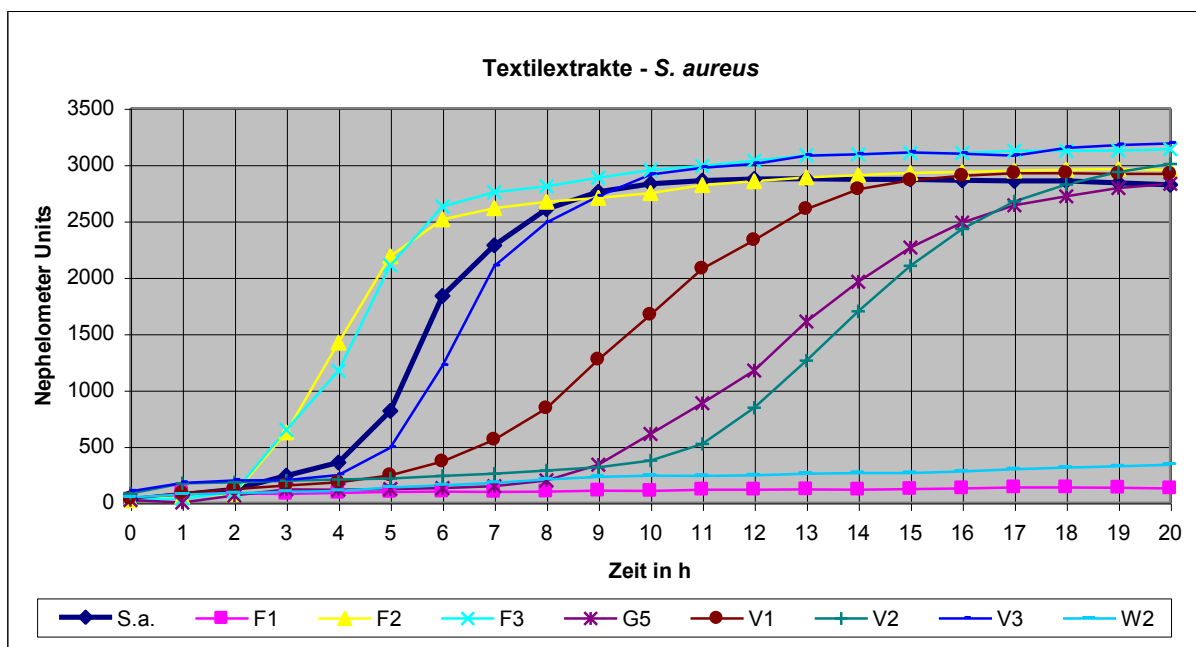


Abbildung 36: Zusammenfassende graphische Darstellung, antibakterieller Effekt der Extrakte (Konz. 100 mg/mL) gegenüber *S. aureus*, gemessen über eine Zeitdauer von 20 h.

Eine kurzzeitige und damit unvollständige Hemmwirkung beider Keime wurde durch die Extrakte G5 (Gestrick aus SeaCell® Active10%, SeaCell® 20% und Lyocell 70%), V1 (wasserstrahlverfestigtes Vlies aus SeaCell® Active 20% und Lyocell80 %), V2 (wasserstrahlverfestigtes Vlies aus SeaCell® Active 100%) und W2 (Gewebe aus Lyocell 85%, SeaCell® 10% und SeaCell® Active 5%) beobachtet. Bei höheren Konzentrationen dieser Extrakte könnte wahrscheinlich auch eine Inhibition beobachtet werden. Durch die Richtlinien des Versuchsaufbaus ist unter den gegebenen Umständen momentan die Herstellung höherer Konz. als 200 mg/mL nicht möglich.

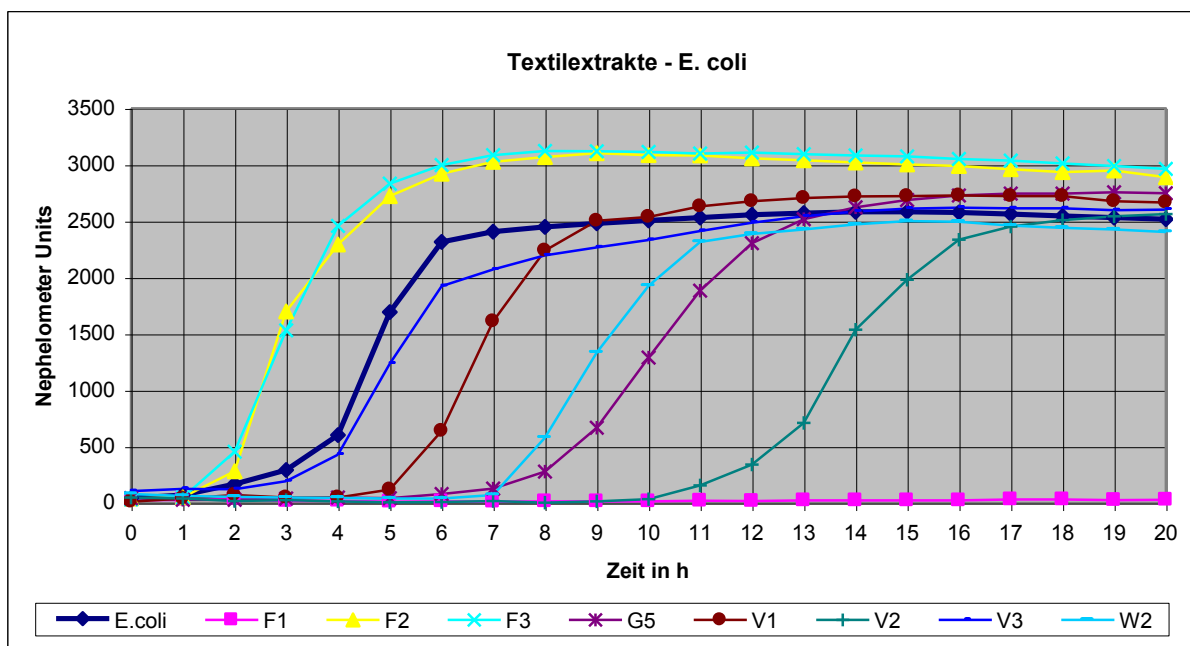


Abbildung 37: Zusammenfassende graphische Darstellung, antibakterieller Effekt der Extrakte (Konz.100 mg/mL) gegenüber *E. coli*, gemessen über eine Zeitdauer von 20 h.

Die Tatsache, dass es unter dem Einfluss von Extrakten F1 zu einem Absterben der Keime kam, verdeutlicht die Abhängigkeit der Wirkung von der Dosierung und des Gehaltes an SeaCell® Active-Fasern (Hipler et al. 2005). Da bei F1 der Gehalt an SeaCell® Active-Fasern (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen) 100% beträgt, fällt der antibakterielle Effekt, verglichen mit den übrigen experimentell ermittelten Ergebnissen, am deutlichsten aus. Durch die Bindung von Silberionen an die Matrix der SeaCell® Fasern (Lyocell/ Alge), wird der durch Silber verursachte abtötende Effekt auf Bakterien ausgenutzt.

Hingegen sind keine SeaCell® Active-Fasern bei den Extrakten der Fasern F2 (SeaCell®, 100%), F3 (Lyocell, 100%) und wasserstrahlverfestigtem Vlies V3 (Lyocell, 100%) vorhanden, weshalb auch keine hemmende Wirkung auf *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* im Rahmen dieser Arbeit nachgewiesen werden konnte.

Die Untersuchungsergebnisse der Messungen der Extrakte des wasserstrahlverfestigten Vlieses V2 verdeutlichten einen zweiten wesentlichen Aspekt, wenn es um die Fragestellung der antibakteriellen Wirkung ging. Bei diesen Extrakten, die ebenfalls einen Gehalt von 100 % SeaCell® Active-Fasern (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen) aufweisen, konnte die erwartete Hemmung, wie durch die Extrakte F1, nicht beobachtet werden. Die Ergebnisse beider Bakterienstämme wiesen unter dem Einfluss der mit 100 mg/mL höchsten Konzentration lediglich eine Wachstumsverzögerung von 10 Stunden auf. Auf Grund dieser Tatsache liegt die Vermutung nahe, dass nicht allein der Gehalt der SeaCell® Active-Fasern für die bakterizide Wirkung ausschlaggebend ist, sondern auch deren Verarbeitungsform.

Ein Vliesstoff enthält nach ISO 9092 eine bearbeitete Schicht, einen Vlies- oder Faserflor. Die Fasern sind sowohl ausgerichtet oder wahllos zueinander angeordnet und werden durch Reibung, Kohäsion sowie Adhäsion verbunden. Nicht zu den Vliesstoffen zählen Papier und Materialien, welche gestrickt, gewebt, gewirkt und getuftet sind (Massenaux G. 2000). Durch ein physikalisches Verfestigungsverfahren mechanischer Art, dem Verwirbeln, wird der Vlies so verfestigt, dass er die an ihn gestellten Anforderungen im täglichen Gebrauch erfüllen kann. In diesem konkreten Fall führt ein Wasserstrahl mit einer erforderlichen Mindestenergie dazu, dass die Fasern erfasst, umorientiert und somit verwirbelt, verschlungen oder sogar verknotet werden (Münstermann et al. 2000).

Es ist vorstellbar, dass die Oberfläche einer einzelnen Faser in einem Flächengebilde wie dem Vliesstoff kleiner wird. Mit dem Schwund der Oberfläche können weniger Silberionen pro Faser freigesetzt werden. Darüber hinaus wäre es denkbar, dass durch das beschriebene Verfestigungsverfahren beim Auftreffen des energiereichen Wasserstrahls ein Teil des vorhandenen Silbers ausgewaschen wird. Durch beide Hypothesen wird versucht, die Verringerung der Wirksamkeit des Silbers zu erklären. In der Literatur sind dazu allerdings keine ausreichenden Angaben dokumentiert.

Die deutlich geringere Wachstumsverzögerung von V1 im Vergleich zu V2 lässt sich mit dem Anteil von lediglich 20% SeaCell® Active-Fasern begründen. Am Beispiel von *E. coli* wurde nach 6 Stunden eine Inhibierung um 71% gemessen, jedoch bereits nach 8 Stunden besteht keine Signifikanz zum Kontrollwert (siehe Abb. 11 und Tab. 11). Auch bei *S. aureus*, wo nach 6 Stunden eine Verzögerung des Wachstums um 63%, nach 12 Stunden um 18% erfolgte und erst nach 14 Stunden kein Unterschied zum Standardwachstum nachweisbar war (siehe Abb. 27 und Tab. 19), wird die wesentlich geringere Hemmung von V1 auffällig.

Dass auch nur mit 5% SeaCell® Active-Fasern (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen) über einen längeren Zeitraum eine wachstumshemmende Wirkung erzielt werden kann, beweisen die Ergebnisse, welche durch die Extrakte W2 gemessen werden konnten (siehe Abb. 33 und Tab. 22). *Staphylococcus aureus* erreichte dabei nach 20 Stunden lediglich ein Wachstum von 12% im Vergleich zu dem Kontrollwachstum (100%). Um Fehlinterpretationen dieses Ergebnisses ausschließen zu können, wurden nach der Messung die Bakterien der höchsten Extraktkonzentration auf eine Agarplatte überimpft. Dabei konnten sich charakteristische Kolonien auf dem Nähragar erneut bilden. Damit war der Nachweis erbracht, dass es sich hierbei lediglich um einen bakteriostatischen Einfluss der Extrakte handelte.

Bei *Escherichia coli* war die nachgewiesene Inhibierung, verursacht durch die Extrakte W2, wesentlich geringer (siehe Abb. 17 und Tab. 14). Denn bereits nach 12 Stunden wurde ein Wachstum von 98% der Mikroorganismen im Vergleich zum Standardwachstum gezählt. Diese Tatsache lässt die Vermutung zu, dass die gramnegativen *Escherichia coli* Bakterien widerstandsfähiger gegenüber der antibakteriellen Wirkung der Silberionen sind.

Die morphologischen Veränderungen von *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus*, verursacht durch Silber, wurden von Feng et al. (2000) beschrieben. Sie führten bei beiden Bakterienstämmen eine Röntgenanalyse und elektronenmikroskopische Untersuchungen durch, nachdem sie diese mit Silbernitrat behandelt hatten. Die veröffentlichten Ergebnisse zeigen gleichartige Veränderungen beider Zellstrukturen, obwohl sich die Zellwände grampositiver und gramnegativer Bakterien hinsichtlich ihrer Dicke unterscheiden. Die Peptidglykane von *Staphylococcus aureus* sind wesentlich dicker im Vergleich zu *Escherichia coli*. Wenn es um die Abwehr von Silberionen geht, scheint die Zellwanddicke keine entscheidende Rolle zu spielen (Feng et al. 2000). In der Literatur gibt es keine Angaben darüber, ob *Staphylococcus*- oder *Escherichia* Spezies sensibler auf Silber reagieren.

Der durch die Textilextrakte nachgewiesene positive Wachstumseffekt an beiden Bakterienstämmen schwankte nach Ablauf der Untersuchungen zwischen 101% und 118% und war bei allen Messungen dieser Arbeit auffällig. Die verwendeten Fasern enthielten als wichtigste Grundsubstanz Cellulose. So besteht die Rohbaumwolle aus 80%-90% Cellulose, welche hydrophil und hygroskopisch ist (Albrecht 2000). Die Cellulose ist farb- und geruchlos und als Gerüstsubstanz von Pflanzenzellen ein in der Natur weit verbreitetes Polysaccharid. Mikroorganismen sind durch das Enzym Cellulase in der Lage, die Cellulose über die Cellobiose zu Glukose abzubauen. Durch dieses zusätzliche Nährstoffangebot, der Glukose, haben die Bakterien gute Nährstoffbedingungen vorgefunden, was sich in einem Wachstumsplus bei den ausgewerteten Ergebnissen geäußert hat.

Bedingt durch möglicherweise unterschiedlich starke Wärmeentwicklung während der Messdauer konnten Schwankungen des pH-Wertes der Extrakte und damit Veränderungen der Silberionenfreisetzung entstehen. Dies könnte eine Fehlerquelle bei der Messung mit dem Mikroplattennephelometer sein und eine mögliche Ursache für die zeitweise gering auftretenden Schwankungen der Sensibilität beider Keime gegenüber Silber darstellen. Hier wären noch zusätzliche Untersuchungen notwendig, z.B. um den Einfluss des pH-Wertes auf die Freisetzung der Silberionen nachzuweisen.

6.2 Antibakterielle Wirkung des Silbers

Die antimikrobielle Wirkung wurde erstmals von dem Schweizer Botaniker Wilhelm von Nägeli erwähnt und als oligodynamischer Effekt des Silbers bezeichnet. Er beobachtete im Wasser das Absterben von Mikroorganismen, welche mit Metallen in Berührung gekommen waren (Nägeli 1893).

Bereits in der Vergangenheit war die Vielzahl der Einsatzmöglichkeiten von Silber in der Medizin beeindruckend. Ob im Fachgebiet der Dermatologie, wo mit Silbernitrat Warzen und unansehnliche Granulome, durch Bakterien oder auch Pilze infizierte Hautareale behandelt wurden, aber auch in der Traumatologie, Transplantatchirurgie und der Augenheilkunde hatte Silber ein breites Indikationsspektrum. Selbst in der Neuzeit wird Silber in verschiedenen Bereichen der Medizin in unterschiedlichen Applikationsformen eingesetzt. Zum Beispiel findet es schon seit langer Zeit Verwendung bei der Behandlung von Brandwunden in Form von Salben und Lösungen in Verbindung mit Sulfadiazin oder als Silbernitrat (Klasen 2000). Weitere Indikationen stellen die Beschichtung von Kathetern und künstlichen Herzklappen dar (Bambauer et al. 2003). So beobachteten zum Beispiel Tweden et al. durch in-vitro Versuche mit silberbeschichteten Herzklappen eine Reduktion der Keimbesiedlung von 99,8 % (Brutel de la Riviere 2000).

In der Textilindustrie versucht man die antibakteriellen sowie antimykotischen Eigenschaften von Silber ebenfalls zu nutzen. Für die Therapie des atopischen Ekzems werden schon seit langem Spezialtextilien entwickelt. Zu meist kamen Materialien wie Baumwolle und Mikrofasern zur Anwendung. Darüber hinaus wurden Anzüge aus silberbeschichteten Taffet produziert und getestet (Wulf, Moll 2004). So konnten Abeck et al. für Patienten mit atopischem Ekzem durch das Tragen einer Armbinde, bestehend aus silberbeschichteten Taffet eine Reduktion der bakteriellen Besiedlung nachweisen. So war im Hautareal der erkrankten Ellenbeuge eine signifikante Minderung von *Staphylococcus aureus* auffällig (Gauger et al. 2003).

Desweiteren konnten in-vitro Studien des silberbeschichteten Taffets eine deutliche Reduktion des Wachstums von *Staphylococcus aureus* und *Candida albicans* aufweisen. Ein erheblicher Nachteil dieses Materials ist eine maximale mögliche Waschttemperatur von 30 °C. In der jüngsten Vergangenheit wurde daher ein silberbeschichteter Baumwollfaden entwickelt, welcher einen hohen Tragekomfort mit den positiven antimikrobiellen Eigenschaften kombinieren soll. In diesem neuen Baumwollstoff ist auf der Innenseite ein mit Silber beschichteter Faden eingewebt. Der große Vorteil, im Gegensatz zu den silberbeschichteten Taffet, ist die Waschbeständigkeit der speziellen Baumwolle bei 60 °C. Ob es dadurch zu einer Verbesserung der klinischen Symptome eines atopischen Ekzems kommt, konnte bisher noch nicht untersucht werden (Wulf, Moll 2004). Bei der Herstellung von SeaCell® Active-Fasern (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen) versucht die Textilindustrie neue Wege zu gehen. Durch die Produktion einer algeninkorporierten Lyocell Faser wird das Silber bis in den Kern dieser dauerhaft aufgenommen (Hipler et al. 2006). Die antimikrobielle Wirkung der SeaCell® Active-Fasern konnte in verschiedenen wissenschaftlichen Studien nachgewiesen werden.

Dabei war es ein langer Weg der Wissenschaft, der zum Verständnis der antimikrobiellen Mechanismen von Silber geführt hat, genauso wie die Ursachenforschung auf molekularer, morphologischer und genetischer Ebene für die Resistenzbildung in Bakterien und Pilzen (Lansdown 2002, Lansdown et al. 2005).

In seiner metallischen Form ist Silber träge und besitzt keine biologischen Eigenschaften. In Anwesenheit von Wasser oder Gewebsflüssigkeit kommt es zur Freisetzung von Silberionen. Nur das ungebundene Silberion besitzt eine toxische und antimikrobielle Wirkung, im gebundenen Zustand kann Silber daher keine toxischen Nebenwirkungen verursachen (Danscher, Rungby 1986). Dennoch ist es von großer Bedeutung, dass bei der Anwendung von Silber prinzipiell dessen dosisabhängige Zelltoxizität zu beachten ist (Gosheger et al. 2004). Da aus technischen Gründen bei der Bestimmung von Silberkonzentrationen aber nicht zwischen ungebundenem und gebundenem Silber unterschieden werden kann, lässt sich die Toxizität des Silbers nicht allein an seiner Konzentration bestimmen. Daher findet man in der Literatur bis zum heutigen Zeitpunkt keine einheitlichen Angaben über toxische Grenzwerte von Silber in Blut und Organen (Maitre 2002). Auch eine lineare Beziehung zwischen der Silberkonzentration und auftretenden Organschäden kann weder bestätigt noch ausgeschlossen werden (Maitre 2002). Die größte Menge an Silber wird vermutlich in den Organen in gebundener Form gespeichert, sodass es seine toxische Wirkung nicht entfalten kann. Bei der Anwendung von silberbeschichteten Medizinprodukten sind in der Literatur keine auftretenden toxischen Nebenwirkungen dokumentiert worden (Bosetti 2002).

6.3 Wirkungsweise des Silbers

Der erste Schritt ist die Anlagerung des Silbers an die Zellmembran. Diese Affinität der Silberionen zu Elektronendonatoren, vornehmlich Disulfide, Imidazole, Amino-, Carbonyl- und Phosphatgruppen der Proteine, führt zu einer intrazellulären Absorption (Lansdown 2006). Die Bindung der Silberionen an oben aufgeführte Gruppen bewirkt die Denaturierung der Proteine. Dies führt zum Verlust biologisch wichtiger Funktionen, welche die Proteine innerhalb der Zellbestandteile wahrnehmen. Die Inaktivierung der Enzyme, welche mit der Membran in Verbindung stehen, wie zum Beispiel die Phosphomannose Isomerase, führt zu einer Denaturierung der Zellhülle (Lansdown 2006).

In Folge dessen kommt es zu einem Mangel an Nährstoffen, die in die Zelle diffundieren und zu einem begrenzten Ausstrom von essentiellen Elektrolyten und Metaboliten führen. Die Membranbeschädigung, welche äußerlich als Narbenbildung auffällt und die erhöhte Permeabilität, führen zum Untergang der Zelle.

Der dominante Effekt der Silberionen in der Zelle stellt deren Einfluss auf das intrazelluläre Enzymsystem dar. Dabei kommt es zur Beeinträchtigung der Elektrolyte und Spurenelemente, was schließlich zu einer fehlerhaften Zellatmung sowie Störungen der RNA- und DNA- Replikation führt (Lansdown 2004).

Die Beeinflussung der Enzymaktivität wird in der Literatur auch von Capillas Perez et al. (2000) beschrieben. Die These von der Störung der DNA-Replikation unterstützen Morell et al. (1989). Ebenfalls wird diskutiert, ob die Silberionen für das Loslösen der Zytoplasmamembran von der Zellwand verantwortlich sind (Wulf, Moll 2004).

Eine andere Hypothese beschreibt eine Inhibition der Atmungskette an zwei Stellen und somit die Unterbrechung der für die aerob lebenden Bakterien wichtigen Sauerstoffzufuhr (Bragg, Rainnie 1974). Damit kann selbst der Aufbau des bakteriellen Biofilms empfindlich gestört werden (Olson et al. 2002).

Weiterhin gibt es Erkenntnisse, dass die Interaktion zwischen Thiolgruppen und den Silberionen eine wesentliche Rolle bei der Inaktivierung der Bakterienzelle spielt (Liau et al. 1997).

Durch die Untersuchungen mittels Röntgenanalyse und Elektronenmikroskopie konnten Feng et al. (2000) ein Schrumpfen der Zytoplasmamembran und Ablösen der Zellwand feststellen.

Im Elektronenlicht erschien das Zentrum der Zellen, welches kondensierte DNA Moleküle enthielt, auffällig verändert. Weiterhin werden elektronendichte Granulate beschrieben, die die Zellwand umgeben oder in der Zelle abgelagert sind (Feng et al. 2000).

Dabei besitzen mikrobielle Zellen die Eigenschaft, besonders empfindlich auf Silberionen zu reagieren. Man hat einen bakteriostatischen Effekt ab einer Silberionenkonzentration von 35 parts per billion (ppb, entspricht ng/g) nachweisen können. Hingegen ist die toxische Wirkung an humanen Zellen mit 300-1200 ppb erst bei weitaus höheren Konzentrationen zu erwarten (Wan et al. 1991). Diese unterschiedliche Sensitivität lässt sich durch die primitive Zellstruktur der Bakterien erklären. Die Enzyme für die Atmungskette liegen in der zytoplasmatischen Membran und sind dadurch direkt den umgebenden Silberionen ausgesetzt (Illingworth et al. 1998). Im Gegensatz dazu sind die Enzyme menschlicher Zellen innerhalb der Membran der Mitochondrien lokalisiert, welche im Inneren der Zelle liegen.

6.4 Monitoring des Bakterienwachstums mit Hilfe des Mikroplattenephelometers

Die Nephelometrie misst die Trübung von Flüssigkeiten, die eine Streuung des Lichtes bewirkt. Gemessen wird der vom Primärstrahl abweichende Winkel des Lichtstrahls.

Die bisherige Indikationsstellung für den Einsatz eines Mikroplattenephelometers ist die Messung der Konzentration von Partikeln in einer flüssigen Suspension. Dies wird im Fachbereich der klinischen Chemie für die Bestimmung zum Beispiel von Albumin oder Hämo-perin an Hand der Proteinpräzipitation oder verschiedenen Immunglobulinen durch die Bildung von Antigen-Antikörper-Präzipitaten angewandt. In der organischen Chemie nutzt man dieses Verfahren zur Quantifizierung von Makromolekülen aus (Hipler et al. 2003).

Bislang ist der Einsatz des Nephelometers zur Beobachtung des Wachstums von Mikroorganismen wenig bekannt. Hipler et al. (2003) berichteten von der Anwendung dieses Gerätes am Beispiel des grampositiven apathogenen *Corynebacterium glutamicum*. Gleichzeitig wurde eine Vergleichsmessung mit einem Photometer durchgeführt, was eine gute Korrelation der ermittelten Daten zeigte. Der große Vorteil der Nephelometrie ist, dass schon geringste Bakterienkonzentrationen nachweisbar sind, die photometrisch noch nicht detektiert werden können.

Aber nicht nur an Bakterien, sondern auch an Pilzen wurde die Kontrolle des Wachstums mit Hilfe des Nephelometers untersucht. Fouda et al. (2006) bestimmten die Empfindlichkeit von *Candida albicans* und *Candida krusei* gegenüber β -Cyclodextrin-Komplexen mit Hilfe dieses Gerätes. Sie beurteilten die Laser-Nephelometrie als eine einfache und schnelle Methode und konnten eine rasche Hemmung sowie ein Abtöten beider Pilzstämme feststellen.

Zur Bestimmung des Einflusses der Textilienextrakte auf das Wachstum von *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* wurde ein Mikrotiterplattenephelometer verwendet, was den großen Vorteil hat, dass mit der Messung in einer 96-Well-Platte der Einfluss elf unterschied-

licher Extraktkonzentrationen in einer Untersuchung dargestellt werden können. Zu Beginn jeder Messreihe wurde bei der Nephelometrie die Ausgangskeimzahl bestimmt, wodurch die Ergebnisse reproduzierbarer und besser vergleichbar sind. Weil schon geringste Keimzahlveränderungen wahrgenommen werden, konnte eine authentische Wachstumskurve der Bakterien (Latenz-, Exponentiell-, Stationärephase) während der Messung aufgezeichnet und dokumentiert werden. Vergleicht man diesen Aspekt der Untersuchungsmethode mit dem Agardiffusionstest, so wird ein wesentlicher Vorteil der Nephelometrie deutlich.

Vom Klinikum für Dermatologie und Allergologie der FSU Jena wurden im Vorfeld dieser Arbeit in-vitro Tests zur Kontrolle des Wachstums von Mikroorganismen in Abhängigkeit von Textilextrakten durch die Bestimmung der Größe des Hemmhofes durchgeführt.

Eine quantitative Bestimmung der Keimzahl und damit die Darstellung der exponentiellen Wachstumsphase war jedoch durch diese Methode nicht möglich gewesen.

Weiterhin ist das Verfahren der Laser-Nephelometrie automatisiert, so dass wichtige physiologische Parameter, wie zum Beispiel die Temperatur vor jeder Messung definiert werden mussten. Somit können durch die daraus ergebene Fehlerminimierung exaktere Ergebnisse erzielt werden.

Auffällig waren die gelegentlich auftretenden Streuungen der Messwerte durch die Wirkung der Extrakte F3, G5 und W2 auf *Escherichia coli* (siehe Abb. 8, 10 und 18), als auch die Extrakte F2 und V1 auf das Wachstum von *Staphylococcus aureus*, wie dies die Darstellung der Boxplots graphisch verdeutlichen (siehe Abb. 22 und 28). Zur Vermeidung von unnötigen Flüssigkeitsverlusten sowie zur Gewährleistung der Sterilität der befüllten Wells wurden die Mikrotiterplatten mit einer hydrophoben, transparenten und gasdurchlässigen Folie (Breathe-Easy) versiegelt. Die Verwendung dieser Folie war während des Messvorgangs daher essentiell. Durch die Temperaturen von 37 °C über einen Zeitraum von 20 Stunden konnte es zur Kondensation und Verdunstung in den Wells kommen. Dies führte zum Absetzen kleinerer einzelner Flüssigkeitströpfchen an der Unterseite der Abdeckfolie. Daraus resultierte eine Veränderung der Lichtstreuung, was zu Artefakten und damit zu falsch positiven Werten führen kann.

Die gesamten Untersuchungen wurden mit einer konstanten Bakterienkonzentration von McFarland 2 durchgeführt. Somit geht aus der vorliegenden Arbeit nicht hervor, dass auch bei anderen Konzentrationen der Bakteriensuspension (bezogen auf McFarland-Standard) die gleichen Ergebnisse erzielt werden können. Diese Thematik könnte Gegenstand neuer weiterführender Arbeiten mit Hilfe des Nephelometers sein.

Auch die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die Lasernephelometrie beim Monitoring des Wachstums von Mikroorganismen eine echte zukunftsweisende Alternative darstellt. Im Klinikalltag, wo ein Befund mit Hilfe eines Antibiotogramms diagnostiziert werden kann, ist der Einsatz dieses Gerätes aus heutiger Sicht noch in Frage zu stellen. Zur Durchführung wissenschaftlicher Arbeiten und Studien stellt aber die Nephelometrie schon heute eine Möglichkeit dar, gut reproduzierbare Ergebnisse erhalten zu können.

7 Schlussfolgerung

Gegenstand dieser wissenschaftlichen Arbeit war die experimentelle Bestimmung des Einflusses der Textilextrakte auf das Wachstum von *Escherichia coli* und *Staphylococcus aureus* durch die Mikroplattennephelometrie. Die verwendeten Textilextrakte wurden nach den Richtlinien der DIN-Norm EN ISO 10993-12 zur Testung von Textilien hinsichtlich ihrer Cytotoxizität hergestellt.

Ausschlaggebend für die nachgewiesene wachstumshemmende Wirkung beider Bakterienstämme sind die antibakteriellen Wirkmechanismen des Silbers, welches dauerhaft in die Matrix der algeninkorporierten Lyocellfaser eingebracht wird. Durch die Silberionen der SeaCell® Active-Faser, welche allgemeine morphologische Strukturen der Mikroorganismen angreifen, sind ähnliche Untersuchungsergebnisse wie sie durch diese Arbeit nachgewiesen wurden, auch bei anderen Spezies der gramnegativen- und grampositiven Bakterien zu erwarten. Durch die Herstellung unterschiedlicher Konzentrationen der Extrakte wurde ersichtlich, dass die SeaCell® Active-Fasern (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen) dosisabhängig ein sehr breites Keimspektrum schädigen können.

Über diese Arbeit hinaus ist der antimykotische Effekt in einem in-vitro Testsystem gegenüber *Candida albicans*, *Candida krusei* und *Candida tropicalis* bereits nachgewiesen worden (Hipler et al. 2005).

Zum Ausschluss der cytotoxischen Wirkung auf den Organismus wurden weitere in-vitro Testungen mit dem Ziel durchgeführt, den Einfluss der SeaCell®- und SeaCell® Active-Fasern auf humane Zellen zu untersuchen. Eine abschließende Bewertung der Wirkung dieser Fasern haben die Ergebnisse der klinischen in-vivo Testreihen zum Beispiel mit Hilfe eines Epikutantestes erbracht. Die in diesen Untersuchungen ermittelten Daten deuten auf eine breite klinisch unbedenkliche Anwendbarkeit hin und sind in der Literatur dementsprechend dokumentiert worden.

Neu im Rahmen dieser Arbeit war der Einsatz des Mikroplattennephelometers. Im Gegensatz zu der vorher verwendeten Agardiffusions- und Suspensionsmethode konnte durch die stündlich bestimmte Keimzahl eine genaue Wachstumskurve jeder einzelnen Messung erstellt werden. Dadurch wird es möglich, jedes Ergebnis quantitativ betrachten zu können, was den Vergleich der Wirkung der einzelnen Textilextrakte auf das Bakterium besser ermöglicht. Die im Rahmen dieser Arbeit ermittelten Ergebnisse haben darüber hinaus das Lasernephelometer in seinem Einsatz zum Monitoring des Wachstums von Mikroorganismen bekräftigt.

Die innovative Bedeutung dieser Untersuchungsergebnisse soll der Entwicklung neuer Fasersysteme zur Herstellung moderner Gewebe und Textilien dienen. Daher werden SeaCell® Active-Fasern (Lyocell/ Alge/ Ag⁺-ionen) heute in der Textilindustrie in einer Vielzahl von Geweben oder Vliesen eingesetzt. So zum Beispiel in Hygieneprodukten, Heimtextilien (Bettwäsche, Badeutensilien, Teppiche), Unterwäsche, Arbeits- und Schutzbekleidung sowie Sportbekleidung.

Es ist ein gesamtgesellschaftliches Anliegen, die Menschen unserer Generation, deren gesundheitliches Grundproblem auch in Bewegungsarmut besteht, zu mehr Breitensportlichen Aktivitäten und zur Erlangung von mehr Fitness zu ermuntern. Die gesetzlichen Krankenkassen, jüngst auch die Politiker, haben die Bedeutung dieses Problems erkannt. Die Industrie wird diesen Trend als Marktlücke entdecken, Sport- sowie Outdoortextilien entwickeln und damit diese Zielstellung „bekleiden“ helfen. In dieser Aufgabenstellung wird der Einsatz von SeaCell® Active-Fasern in der Zukunft eine noch größere Rolle spielen müssen.

Literaturverzeichnis

Aberg N, Hesselmar B, Aberg B, Eriksson B. 1995. Increase of asthma, allergic rhinitis and eczema in Swedish schoolchildren between 1979 and 1991. Clin Exp Allergy, 25:815-819.

Albrecht W. 2000. Fasern. In: Albrecht W, Fuchs H, Kittelmann W, Hrsg. Vliesstoffe. Erste Aufl. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, 15-85.

Aly R, Maibach HI, Shinefield HR. 1977. Microbial flora of atopic dermatitis. Arch Dermatol, 113:780-782.

Bambauer R, Mestres P, Schiel R, Bambauer S, Sioshansi P, Latza R. 2003. Long-term catheters for apheresis and dialysis with surface treatment with infection resistance and low thrombogenicity. Therap Apher Dial, 7(2):225-231.

Bergmann RL, Edenharter G, Bergmann KE, Forster J, Bauer CP, Wahn V, Zepp F, Wahn U. 1998. Atopic dermatitis in early infancy predicts allergic airway disease at 5 years. Clin Exp Allergy, 28:965-970.

Bevan CD, Lloyd RS. 2000. A high-throughput screening method for the determination of aqueous drug solubility using laser nephelometry in microtiter plates. Anal Chem, 72:1781-1787.

Bosetti M, Masse A, Tobin E, Cannas M. 2002. Silver coated materials for external fixation devices: in vitro biocompatibility and genotoxicity. Biomaterials, 23(3):887-892.

Bragg PD, Rainnie DJ. 1974. The effect of silver ions on the respiratory chain of Escherichia coli. Can J Microbiol, 20(6):883-889.

Brett U, Heintschel von Heinegg E. 1998. Basiswissen Mikrobiologie. Erste Aufl. Frankfurt am Main, Breidenstein: Umschau-Zeitschriften-Verlag, 119-122.

Breuer K, Haussler S, Kapp A, Werfel T. 2002. Staphylococcus aureus: colonizing features and influence of an antibacterial treatment in adults with atopic dermatitis.

Br J Dermatol, 147:55-61.

Brutel de la Riviere A, Dossche KM, Birnbaum DE, Hacker R. 2000.

First clinical experience with a mechanical valve with silver coating.

J Heart Valve Dis, 9(1):123-129.

Bunikowski R, Mielke M, Skarabis H, Herz U, Bergmann RL, Wahn U, Renz H. 1999.

Prevalence and role of serum IgE antibodies to the Staphylococcus aureus-derived superantigens SEA and SEB in children with atopic dermatitis.

J Allergy Clin Immunol, 103:119-124.

Burr ML, Butland BK, King S, Vaughan-Williams E. 1989. Changes in asthma prevalence: two surveys 15 years apart. Arch Dis Child 64: 1452-1456.

Capillas Perez R, Cabre Aquilar V, Gil Colome AM, Gaitano Garcia A, Torra i Bou JE. 2000. Comparison of the effectiveness and costs of treatment with humid environment as compared to traditional cure, Clinical trial on primary care patients with venous leg ulcers and pressure sores. Rev Enferm, 23:17-24.

Cardona ID, Goleva E, Ou LS, Leung DY. 2006.

Staphylococcal enterotoxin B inhibits regulatory T cells by inducing glucocorticoid-induced TNF receptor-related protein ligand on monocytes. J Allergy Clin Immunol, 117:688-695.

Credé CSF. 1881. Die Verhütung der Augenentzündung der Neugeborenen. In: Archiv für Gynaekologie, 17:50-53.

Dahl MV. 1983. Staphylococcus aureus and atopic dermatitis. Arch Dermatol, 119:840-846.

Danscher G, Rungby J. 1986. Differentiation of histochemically visualized mercury and silver. Histochem J, 18(2-3):109-114.

Feng QL, Wu J, Chen GQ, Cui FZ, Kim TN, Kim JO. 2000. A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*.

J Biomed Materials Res, 52(4):662-668.

Fischer S, Ring J, Abeck D. 2003. Atopisches Ekzem. Provokationsfaktoren und Möglichkeiten ihrer wirkungsvollen Reduktion bzw Elimination. Hautarzt 2003, 54:914-924.

Fouda MM, Knittel D, Hipler UC, Elsner P, Schollmeyer E. 2006.

Antimycotic influence of β -cyclodextrin complexes-in vitro measurements using laser nephelometry in microtiter plates. International journal of pharmaceutics, 311:113-121.

Francis DH, Collins JE, Duimstra JR. 1986. Infection of gnotobiotic pigs with an *Escherichia coli* 0157:H7 strain associated with an outbreak of hemorrhagic colitis.

Infect Immun, 51(3):953-956.

Freudiger A. 2004. SeaCell® eine neue Faser in der textilen Welt. 13. Spinnerer-Kolloquium, Festhalle Denkendorf 27./ 28. April.

Gauger A, Mempel M, Schekatz A, Schäfer T, Ring J, Abeck D. 2003.

Silver-coated textiles reduce *Staphylococcus aureus* colonization in patients with atopic eczema. Dermatology, 207:15-21.

Gosheger G HJ, Ahrens H, Streitbuerger A, Buerger H, Erren M, Guensel A, Kemper FH, Winkelmann W, Von Eiff C. 2004. Silver coated megaendoprotheses

in a rabbit model-an analysis of the infection rate and toxicological side effects.

Biomaterials, 25(24):5547-5556.

Griffin PM, Tauxe RV. 1991. The epidemiology of infections caused by *Escherichia Coli* 0157:H7, other enterohemorrhagic *E. coli*, and the associated hemolytic uremic syndrome. Epidemiol Rev, 13:60-98.

Guggenbichler JP, Böswald M, Lugauer S, Krall T. 1999. A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial activity in central venous catheters. Infection, 27:16-23.

Guzik TJ, Bzowska M, Kasprowiec A, Czerniawska-Mysik G, Wojcik K, Szmyd D, Adamek-Guzik T, Pryjma J. 2005. Persistent skin colonization with *Staphylococcus aureus* in atopic dermatitis: relationship to clinical and immunological parameters. *Clin Exp Allergy*, 35:448-455.

Hamilton-Miller JM, Shah S, Smith C. 1993. Silver sulphadiazine, a comprehensive in vitro reassessment. *Chemotherapy*, 39:405-409.

Hampel B. 1995. Akute infektiöse Durchfallerkrankungen und Lebensmittelvergiftungen durch Bakterien. In: KJG Schmailzl, Hrsg. *Harrisons Innere Medizin*. 13te Aufl. Berlin, Wien: Blackwell Wissenschaftsverlag, 630-635.

Hancock DD, Besser TE, Kinsel ML, Tarr PI, Rice DH, Paros MG. 1994. The prevalence of *Escherichia coli* 0157:H7 in dairy and beef cattle in Washington State. *Epidemiol Infect*, 113(2):199-207.

Hauk PJ, Hamid QA, Chrousos GP, Leung DY. 2000. Induction of corticosteroid insensitivity in human PBMCs by microbial superantigens. *J Allergy Clin Immunol*, 105:782-787.

Hipler B, Brand S, Angersbach S, Rückert C. 2003. Monitoring des Wachstums von Mikroorganismen mit Hilfe der Nephelometrie. *Biospektrum*, 5:648-649.

Hipler UC, Elsner P, Fluhr JW. 2005. Anti-fungal and anti-bacterial properties of a silver-loaded cellulosic fiber. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*, 77B:156-163.

Hipler UC, Zikeli S, Elsner P, Fluhr JW. 2006. SeaCell® Active- Die natürliche Cellulosefaser mit antimikrobiellen Eigenschaften. *Aktuelle Dermatologie*, 32:23-26.

Hof H, Hrsg. 2000. Mikrobiologie. Erste Aufl. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 373-376.

Illingworth BL, Tweden K, Schroeder RF, Cameron JD. 1998. In vivo efficacy of silver-coated (Silzone) infection-resistant polyester fabric against a biofilm producing bacteria, *Staphylococcus epidermidis*. *J Heart Valve Dis*, 7(5):524-530.

Kawahara K, Tsuruda K, Morishita M, Uchida M. 2000. Antibacterial effect of silverzeo-lite on oral bacterial under anaerobic conditions. *Dental Materials*, 16:452-455.

Keene WE, McAnulty JM, Hoesly FC, Williams LP Jr, Hedberg K, Oxman GL, Barrett TJ, Pfaller MA, Fleming DW. 1994. A swimming-associated outbreak of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* and *Shigella sonnei*. *N Engl J Med*, 331(9):579-584.

Kennedy SS, Zacharski LR, Beck JR. 1980. Thrombotic thrombocytopenic purpura: analysis of 48 unselected cases. *Semin Thromb Hemost*, 6(4):341-349.

Klasen HJ. 2000. A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. *Burns*, 26(2):131-138.

Lansdown A. 2002. Silver I: Its antibacterial properties and mechanism of action. *J Wound Care*, 11:125-130.

Lansdown A, Williams A, Chandler S, Benfield S. 2005. Silver absorption and antibacterial efficacy of silver dressings. *J Wound Care*, 14:155-160.

Lansdown A. 2006. Silver in health care: Antimicrobial effects and safety in use. *Curr Probl Dermatol*, 33:17-34.

Lansdown A. 2004. A review of the use of silver in wound dressings: facts and fallacies, *Br J Nurs*, 13:6-13.

Liau SY, Read DC, Pugh WJ, Furr JR, Russel AD. 1997. Interaction of silver-nitrate with readily identifiable groups-relationship to the antibacterial action of silver ions. *Lett Appl Microbio*, 25:279-283.

Maitre S, Jaber K, Perrot JL, Guy C, Cambazard F. 2002. Increased serum and urinary levels of silver during treatment with topical silver sulfadiazine. *Ann Dermatol Venereol*, 129(2):217-219.

Maki DG, Tambyah PA. 2001. Engineering out the risk for infection with urinary catheters. *Emerg Infect Dis*, 7:342-347.

Massenaux G. 2000. Einführung in das Gebiet der Vliesstoffe. In: **Albrecht W, Fuchs H, Kittelmann W, Hrsg. Vliesstoffe. Erste Aufl. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, 1-3.**

Mempel M, Lina G, Hojka M, Schnopp C, Seidl HP, Schäfer T, Ring J, Vandenesch F, Abeck D. 2003. High prevalence of superantigens associated with the *egc* locus in *Staphylococcus aureus* isolates from patients with atopic eczema. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 22:306-309.

Mempel M, Schmidt T, Weidinger S, Schnopp C, Foster T, Ring J, Abeck D. 1998. Role of *Staphylococcus aureus* surface-associated proteins in the attachment to cultured HaCaT keratinocytes in a new adhesion assay. *J Invest dermatol*, 111:4525-4526.

Mempel M, Schnopp C, Hojka M, Fesq M, Weidinger S, Schaller M, Korting HC, Ring J, Abeck D. 2002. Invasion of human keratinocytes by *Staphylococcus aureus* and intracellular bacterial persistence represent haemolysin-independent virulence mechanisms that are followed by features of necrotic and apoptotic keratinocyte cell death. *Br J Dermatol*, 146:943-951.

Morell CJ, Walters SJ, Dixon S, Collins KA, Brereton LML, Peters J, Brooker CGD. 1989. Cost effectiveness of community leg ulcer clinics: randomised controlled trial. *Br Med Jm*, 316:1487-1491.

Münstermann U, Möschler W, Watzl A. 2000. Verwirbelungsverfahren. In: **Albrecht W, Fuchs H, Kittelmann W, Hrsg. Vliesstoffe. Erste Aufl. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH, 326-340.**

Nomura I, Tanaka K, Tomita H, Katsunuma T, Ohya Y, Ikeda N, Takeda T, Saito H, Akasawa A. 1999. Evaluation of the staphylococcal exotoxins and their specific IgE in childhood atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol*, 104:441-446.

Olson ME, Harmon BG, Kollef MH. 2002. Silver-coated endotracheal tubes associated with reduced bacterial burden in the lungs of mechanically ventilated dogs. *Chest*, 121(3):863-870.

Pedersen A. 1984. Studies on phenol content and heavy metal uptake in fucoids. *Hydrobiologia*, 116/117:498–504.

Peeters KA, Mascini EM, Sanders CJ. 2004. Resistance of *Staphylococcus aureus* to fusidic acid. *Int J Dermatol*, 43:235-236.

Pournaras CC, Lübke J, Saurat JH. 2001. Staphylococcal colonization in atopic dermatitis treatment with topical tacrolimus (Fk506). *J Invest Dermatol*, 116:480-481.

Remitz A, Kyllönen H, Granlund H, Reitamo S. 2001. Tacrolimus ointment reduces staphylococcal colonization of atopic dermatitis lesions. *J Allergy Clin Immunol*, 107:196-197.

Riley LW, Remis RS, Helgerson SD, McGee HB, Wells JG, Davis BR, Hebert RJ, Olcott ES, Johnson LM, Hargrett NT, Blake PA, Cohen ML. 1983. Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. *N Engl J Med*, 308(12):681-685.

Rodgers GL, Mortensen JE, Fisher MC, Long SS. 1997. In vitro susceptibility testing of topical antimicrobial agents in pediatric burn patients: Comparison of two methods. *J Burn Care Rehabil*, 18:406-410.

Rowe PC, Orrbine E, Lior H, Wells GA, McLaine PN. 1993. A prospective study of exposure to verotoxin-producing *Escherichia coli* among Canadian children with haemolytic uraemic syndrome. *Epidemiol Infect*, 110(1):1-7.

Saarinen UM, Kajosaari M. 1995. Breastfeeding as prophylaxis against atopic disease: prospective follow-up study until 17 years old. *Lancet*, 346:1065-1069.

Schnopp C, Holtmann C, Stock S, Remling R, Fölster-Holst R, Ring J, Abeck D. 2002.

Topical steroids under wet-wrap dressings in atopic dermatitis—a vehicle-controlled trial. *Dermatology*, 204:56-59.

Shah M, Mohanraj M. 2003. High levels of fusidic acid-resistant *Staphylococcus aureus* in dermatology patients. *Br J Dermatol*, 148:1018-1020.

Silver S. 2003. Bacterial silver resistance, molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *Federation of European Microbiological Societies (FEMS) Microbiol Rev*, 7:341-353.

Spacciapoli P, Buxton D, Rothstein D, Friden P. 2001. Antimicrobial activity of silver nitrate against periodontal pathogens. *Journal of Periodontal Research*, 36:108-113.

Trautmann M. 1995. Infektionen mit gramnegativen Bakterien. In: KJG Schmailzl, Hrsg. *Harrisons Innere Medizin*. 13te Aufl. Berlin, Wien: Blackwell Wissenschaftsverlag, 730-737.

Tzipori S, Wachsmuth IK, Chapman C, Birden R, Brittingham J, Jackson C, Hogg J. 1986. The pathogenesis of hemorrhagic colitis caused by *Escherichia coli* in gnotobiotic piglets. *J Infect Dis*, 154(4):712-716.

Walev I, Martin E, Jonas D, Mohamadzadeh M, Muller-Klieser W, Kunz L, Bhakdi S. 1993. Staphylococcal alpha-toxin kills human keratinocytes by permeabilizing the plasma membrane for monovalent ions. *Infect Immun*, 61:4972-4979.

Wan AT, Conyers RA, Coombs CJ, Masterton JP. 1991. Determination of silver in blood, urine, and tissues of volunteers and burn patients. *Clin Chem*, 37:1683-1687.

Wann ER, Gurusiddappa S, Hook M. 2000. The fibronectinbinding MSCRAMM FnbpA of *Staphylococcus aureus* is a bifunctional protein that also binds to fibrinogen. *J Biol Chem*, 275:13863-13871.

Williams RL, Doherty PJ, Vince DG, Grashof GJ, Williams DF. 1989. The biocompatibility of silver. *Brit Rev Biocompatibility*, 5:221–243.

Williams HC. 1992. Is the prevalence of atopic dermatitis increasing.
Clin Exp Dermatol 17: 385-391.

Williams RE. 2000. The antibacterial-corticosteroid combination. What is its role in atopic dermatitis? Am J Clin Dermatol, 1:211-215.

Wulf A, Moll I. 2004. Silberbeschichtete Textilien–eine ergänzende Therapie bei dermatologischen Erkrankungen. Akt Dermatol 30: 28-29.

Zeisler J. 1885.

Note on the antiparasitic treatment of eczema. J Cutan Genitourin Dis, 13:507.

Zikeli S. 2001. Lyocell fibers with health-promoting effect through incorporation of seaweed. Chemical Fibers international, 51:272-276.

Zikeli S. 2002. SeaCell® Active – Eine neue cellulosische Faser mit antimikrobiellen Eigenschaften. Avantex–International Forum and Symposium for High–tech Apparel Textiles Mai 2002.

Zhou D, Zhang L, Zhou J, Guo S. 2004. Cellulose/chitin beads for adsorption of heavy metals in aqueous solution. Water Res, 38:2643-2650.

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Schematische Darstellung der Herstellung von SeaCell® Active-Fasern.....	7
Abb. 2: Schematische Darstellung des Messprinzips eines Mikroplatten-nephelometers	8
Abb. 3: F1-<i>E. coli</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.....	27
Abb. 4: F1- <i>E. coli</i> : Boxplottdarstellung	28
Abb. 5: F2-<i>E. coli</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.....	29
Abb. 6: F2- <i>E. coli</i> : Boxplottdarstellung	30
Abb. 7: F3-<i>E. coli</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.....	31
Abb. 8: F3- <i>E. coli</i> : Boxplottdarstellung	32
Abb. 9: G5-<i>E. coli</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL ...	33
Abb.10: G5- <i>E. coli</i> : Boxplottdarstellung	34
Abb.11: V1-<i>E. coli</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL ...	35
Abb.12: V1- <i>E. coli</i> : Boxplottdarstellung	36
Abb.13: V2-<i>E. coli</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL ...	37
Abb.14: V2- <i>E. coli</i> : Boxplottdarstellung	38
Abb.15: V3-<i>E. coli</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL ...	39
Abb.16: V3- <i>E. coli</i> : Boxplottdarstellung.....	40
Abb.17: W2-<i>E. coli</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL ..	41
Abb.18: W2- <i>E. coli</i> : Boxplottdarstellung	42
Abb.19: F1-<i>S. a.</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL	43
Abb.20: F1- <i>S. a.</i> : Boxplottdarstellung	44
Abb.21: F2-<i>S. a.</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL	45
Abb.22: F2- <i>S. a.</i> : Boxplottdarstellung	46
Abb.23: F3-<i>S. a.</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL	47
Abb.24: F3- <i>S. a.</i> : Boxplottdarstellung	48
Abb.25: G5-<i>S. a.</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL	49
Abb.26: G5- <i>S. a.</i> : Boxplottdarstellung.....	50
Abb.27: V1-<i>S. a.</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.....	51
Abb.28: V1- <i>S. a.</i> : Boxplottdarstellung.....	52
Abb.29: V2-<i>S. a.</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.....	53
Abb.30: V2- <i>S. a.</i> : Boxplottdarstellung.....	54
Abb.31: V3-<i>S. a.</i> : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.....	55
Abb.32: V3- <i>S. a.</i> : Boxplottdarstellung.....	56

Abb.33: W2-S. a. : Graph. Darstellung über einen Zeitraum von 20 h, Konz. in mg/mL.....	57
Abb.34: W2-S. a.: Boxplottdarstellung.....	58
Abb.35: Hemmhofmessung nach 24 h, antibakterieller Effekt gegen <i>S. a.</i> und <i>E. coli</i>	59
Abb.36: Zusammenfassende graph. Darstellung, antibakterieller Effekt der Extrakte (Konz. 100mg/mL) gegenüber <i>S. a.</i> , gemessen über eine Zeitdauer von 20 h	60
Abb.37: Zusammenfassende graph. Darstellung, antibakterieller Effekt der Extrakte (Konz. 100mg/mL) gegenüber <i>E. coli</i> , gemessen über eine Zeitdauer von 20 h	61

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Probenschlüssel der Textilien.....	17
Tab. 2: Schema der Mikrotiterplatte zur Bestimmung der Standardkurven.....	21
Tab. 3: Schema der Mikrotiterplatte, die zur Bestimmung von Wachstumskurven ohne Extrakte verwendet wurde.....	22
Tab. 4: Verdünnungsschema zur Herstellung von verschiedenen Extraktkonzentrationen ..	23
Tab. 5: Schema der Mikrotiterplatte, es werden die entgültigen Konz. der Extrakte (in mg/mL) angegeben	24
Tab. 6: Einstellung des Nephelometers (NEPHELOstar Galaxy) für die Messreihen.....	25
Tab. 7: F1- <i>E. coli</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	28
Tab. 8: F2- <i>E. coli</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	30
Tab. 9: F3- <i>E. coli</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	32
Tab.10: G5- <i>E. coli</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	34
Tab.11: V1- <i>E. coli</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	36
Tab.12: V2- <i>E. coli</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	38
Tab.13: V3- <i>E. coli</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	40
Tab.14: W2- <i>E. coli</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	42
Tab.15: F1- <i>S. a.</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	44
Tab.16: F2- <i>S. a.</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	46
Tab.17: F3- <i>S. a.</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	48
Tab.18: G5- <i>S. a.</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	50
Tab.19: V1- <i>S. a.</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	52
Tab.20: V2- <i>S. a.</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	54
Tab.21: V3- <i>S. a.</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	56
Tab.22: W2- <i>S. a.</i> , Signifikanz p und relativen Anteil in % zur Referenz.....	58

LEBENS LAUF

Persönliche Daten

Name:	Reiß
Vorname:	Matthias
Adresse:	Heideweg 7 08412 Leubnitz
Geburtsdatum:	08.01.1979 in Zwickau
Familienstand:	ledig
Staatsangehörigkeit:	deutsch
Vater:	Werner Reiß, Fachzahnarzt für Kieferorthopädie
Mutter:	Gudrun Reiß, OP- Schwester

Ausbildung

September 1985- Juli 1991	Grundschule, Polytechnische Oberschule „Jürgen Lange“ in Werdau
September 1991- Juli 1997	Gymnasium, „A.-Humboldt“ in Werdau 12.07.1997 Allgemeine Hochschulreife
September 1997- September 1998	Zivildienst, „Heinrich-Braun“ Krankenhaus Zwickau
August 1998- August 2001	Ausbildung, Radiologieassistent an der Medizinischen Fachschule in Zwickau 10.08.2001 Berufserlaubnis Medizinisch- technischer Radiologieassistent
Oktober 2001- Januar 2007	Studium, der Zahnmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena 11.03.2004 Zahnärztliche Vorprüfung 04.01.2007 Zahnärztliche Prüfung
seit April 2007	zahnärztlicher Ausbildungsassistent in der Zahnarztpraxis Werner Reiß in Werdau

Ort, Datum

Unterschrift

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich ganz besonders denjenigen danken, die mich im Verlauf dieser Arbeit unterstützt haben.

Ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. rer. nat. Uta-Christina Hipler, die mich im gesamten Verlauf dieser Arbeit fortwährend sowohl in Theorie als auch Praxis unterstützte, förderte und motivierte. Darüber hinaus danke ich ihr für die stetige Hilfs- und Diskussionsbereitschaft und nicht zuletzt für die vielen Ideen und Anregungen, die auch in diese Arbeit eingingen.

Ich danke Herrn Professor Dr. med. Peter Elsner für die Überlassung des Themas sowie die Bereitstellung des Labors und Materialien. Außerdem möchte ich mich bei dem Team des Labors ganz herzlich für die gute Zusammenarbeit sowie für die Unterweisungen und Hilfestellungen bei den Arbeiten bedanken.

Mein größter Dank gilt jedoch meinen Eltern Gudrun und Werner Reiß für ihre langjährige Unterstützung vor und besonders während meines Studiums.

EHRENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG

Reiß, Matthias
Heideweg 7
08412 Leubnitz

Hiermit erkläre ich, Matthias Reiß, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Person bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt hat: Frau Dr. rer. nat. Uta-Christina Hipler

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift des Verfassers